



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

UTILIZAÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS PARA A PRODUÇÃO DE PRODUTOS COM INTERESSE FARMACÊUTICO

Trabalho submetido por
Inês Sofia Barradas Mouquinho
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

UTILIZAÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS PARA A PRODUÇÃO DE PRODUTOS COM INTERESSE FARMACÊUTICO

Trabalho submetido por
Inês Sofia Barradas Mouquinho
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof.^a Doutora Maria Helena Barroso

novembro de 2016

DEDICATÓRIA

A vocês pais,
que sempre me apoiaram incondicionalmente em todos os meus passos!

À Família e aos Amigos,
que sempre acreditaram na minha capacidade de fazer mais e melhor!

“O êxito da vida não se mede pelo caminho que conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho”

Abraham Lincoln

AGRADECIMENTOS

“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”

in Livro do Desassossego por Bernardo Soares. Fernando Pessoa

É bem sabido que a vida é feita e construída a partir de desafios, desde o primeiro passo dado, em que temos o primeiro contacto com o equilíbrio, até à entrada na escola primária onde aprendemos a construir relações e emoções. No entanto, terminar um curso e fazer dele uma etapa relevante para o futuro é talvez um dos maiores desafios, é um percurso tão importante que não pode ser percorrido sozinho, e agora, que chega o fim de 6 anos de trabalho, é preciso agradecer:

Em primeiro lugar, aos meus pais, e sempre a eles, por todo o apoio e paciência ao longo de toda a minha vida académica e pessoal, sem eles o sonho não seria de todo concretizável, sem eles não teria a capacidade de olhar para trás e pegar nos exemplos que foram de luta e conquista por um futuro que em nada está garantido a não ser que trabalhem e nos esforcemos para alcançar os objetivos e obstáculos que vão surgindo ao longo da nossa vida.

Aos meus avós maternos e paternos – Silvina e Diamantino e Luísa e Filipe, respetivamente – à tia Bia e à tia Umbelina, que são como se fossem também avós, por todo o apoio... a vossa “menina”, termina hoje uma etapa importante da sua vida e à qual vocês têm o prazer de assistir. A idade pesa, é um facto, mas também hoje vocês alcançam uma vitória. As avós, as segundas mães, e os avós os eternos companheiros de aventuras que marcaram toda a fase da infância e crescimento, um tempo que já lá vai mas que contribuiu em muito para me tornar na pessoa que hoje sou.

À Isabel Silva, à Filipa Cantiga e à Sara Afonso, as amigas que sempre estiveram presentes nos momentos bons e menos bons destes seis anos de curso, que sabem o que é passar por ele e que acreditaram em mim dando sempre o seu apoio incondicional para que eu seguisse em frente.

Ao Gustavo pela paciência e apoio ao longo de 5 anos, embora com feitios e escolhas pessoais diferentes (que muitas vezes chocaram) é importante não deixar de

lembrar quem também acompanhou uma boa parte do percurso a nível académico pela Muy Noble Academia Egas Moniz bem como a nível pessoal.

Ao Afonso, por compreender ao longo destes 3 meses o porquê de a “tese” ser a prioridade mais importante e consequentemente pelo apoio e força que me deu para juntos podermos chegar até ao momento da conclusão de uma etapa tão importante.

E, por ultimo, e não menos importante à Professora Doutora Helena Barroso por todo o apoio prestado, colaboração e preciosos conselhos. Muito obrigada, esta tese existe também por si, em primeiro por ter aceite ser minha orientadora e, em último, por ter acreditado que era capaz. Um Muito Obrigado!

RESUMO

As plantas são desde sempre uma fonte de compostos bioativos de grande interesse industrial. No entanto, muitas das plantas estudadas até hoje hospedam no seu interior microrganismos endofíticos (ou endófitos) – fungos, bactérias ou actinomicetes – e, também eles, são uma inovadora fonte de compostos bioativos naturais com potenciais aplicações na agricultura, medicina e indústria alimentar.

Através dos avanços biotecnológicos das últimas décadas, foram isolados, a partir de fungos endofíticos, inúmeros compostos bioativos e que podem atuar como potenciais agentes antimicrobianos, inseticidas, citotóxicos, anticancerígenos, imunossuppressores ou antidiabéticos.

Os microrganismos endofíticos e as plantas hospedeiras estabelecem relações de simbiose, mais propriamente de mutualismo, durante o longo período de coevolução. Relação essa que lhes permite transferir material genético entre si e, desta forma, é conferida a alguns destes microrganismos a capacidade de produzir os mesmos metabolitos ativos ou similares como aqueles produzidos pelas plantas hospedeiras.

Na presente monografia procurou-se enquadrar um pouco os fungos endofíticos no Reino *Fungi* e, posteriormente, analisar o processo evolutivo na pesquisa de compostos anticancerígenos, antibióticos, antifúngicos, antivirais, antioxidantes, antidiabéticos e imunossuppressores.

Para finalizar, procurou fazer-se uma análise às perspetivas futuras relativamente, ao estudo dos microrganismos endofíticos e, em especial, à compreensão e investigação dos mecanismos aos quais estes microrganismos estão sujeitos de forma a promover a eficiência de produção dos compostos bioativos, assim como as suas aplicações potenciais no futuro.

ABSTRACT

Plants have always been a source of bioactive compounds of great industrial interest. However, many of the plants studied up today are host of endophytic microorganisms (or endophytes) – fungi, bacteria or actinomycetes – and these are also a novel source of natural bioactive compounds with a great potential application in agriculture, medicine and food industry.

Through the biotechnological advances of the past decades, it is now possible to isolate from endophytic fungi many bioactive compounds, which may act as potential antimicrobial agents, insecticides, cytotoxic, anticancer, anti-diabetic or immunosuppressive agents.

The endophytic microorganisms and the host plants establish symbiotic relationships, more specifically mutualism, during the long period of coevolution. This relationship allowed the transferring of genetic material between themselves, and thus it is imparted to some of these microorganisms the ability to produce the same or similar active metabolites such as those produced by host plants.

In the present monography it was sought to fit the endophytic fungi in the *Fungi* Kingdom and subsequently analyses the evolutionary process in the research of anti-cancer compounds, antibiotics, antifungals, antivirals, antioxidants, anti-diabetic and immunosuppressive.

Finally, it was conducted an analysis of the future prospects related to the study of endophytic microorganisms and in particular, understanding and research of the mechanisms to which these microorganisms are subject in order to promote an efficient production of bioactive compounds, as well as their potential applications in the future.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	1
ABSTRACT.....	3
ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS	11
GLOSSÁRIO.....	13
INTRODUÇÃO	15
1. ENQUADRAMENTO GERAL DO REINO FUNGI.....	17
1.1 IMPORTÂNCIA.....	17
1.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS	17
1.3 REPRODUÇÃO	19
1.3.1) Reprodução Assexuada	20
1.3.2) Reprodução Sexuada e Divisão Taxonómica	21
2. MICRORGANISMOS ENDOFÍTICOS.....	23
2.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS	23
3. INTERESSE FARMACÊUTICO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS	27
3.1 COMPOSTOS ANTICÂNCERÍGENOS	28
3.1.1) Paclitaxel e Análogos	28
3.1.2) Ácido Torreiano	30
3.1.3) Ergoflavina	30
3.1.4) Fenilpropanóides	31
i. Podofilotoxina	32
3.1.6) Alcalóides	33
i. Camptotecina	33
ii. Vimblastina e análogos.....	35
3.2 COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS	36
3.2.1) Fomopsicalasina.....	36
3.2.2) Produzidos por <i>Colletotrichum</i> sp.	37
3.2.5) Antibióticos Voláteis	37
3.3 COMPOSTOS ANTIVIRAIS	38
3.4 COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	39
3.4.1) Produzidos pelo fungo <i>Cryptosporiopsis quercina</i>	40

3.4.2) Produzidos por fungos <i>Pestalotiopsis</i> sp.	41
3.4.3) Produzidos por fungos <i>Fusarium</i> sp.	42
3.5 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES.....	43
3.5.1) Pestacina e Isopestacina.....	44
3.5.2) Grafislactona A.....	45
3.6 COMPOSTOS QUE FUNCIONAM COMO AGENTES ANTIDIABÉTICOS.....	45
3.7 COMPOSTOS IMUNOSSUPRESSORES	45
CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS.....	47
BIBLIOGRAFIA	49
ANEXOS.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA I: Representação esquemática da estrutura das hifas e organelos nelas contidas: CL: Corpo Lipídico; CW: Corpo de Woronin; DI: Dictiossomas; LS: Lisossoma; MES: Mesossoma; MI: Mitocôndria; MP: Membrana Plasmática; MTC: Microtúbulos citoplasmáticos; MTN: Microtúbulos Nucleares; NC: Nucléolo; NU: Núcleo; PC: Parede Celular; PV: Provacúolo; R: Ribossomas; RE: Reticulo Endoplasmático; S: Septo; SPI: 'Spizenkörper'; V: Vacúolo; VA: Vesículas Apicais.....	18
FIGURA II: Representação dos dois tipos de hifas.	19
FIGURA III: Diferença entre esporangiósporos e conídios.....	20
FIGURA IV: Paclitaxel (taxol), o primeiro fármaco antecancerígeno conhecido, é produzido por variadas espécies de fungos endofíticos.....	29
FIGURA V: Estrutura química do ácido torreianico.....	30
FIGURA VI: Estrutura química da ergoflavina, um composto com propriedades anticancerígenas	31
FIGURA VII: A podofilotoxina (A) é um precursor da síntese de fármacos como o etopósido (B) e o teniposídeo (C).	32
FIGURA VIII: Estrutura química da campotecina	34
FIGURA IX: Estruturas químicas dos alcalóides provenientes de <i>Catharantus roseus</i>	36
FIGURA X: Estrutura química da criptocandina A, onde está demonstrada a posição do aminoácido 3-hidroxi-4-hidroximetilprolina.....	40
FIGURA XI: Estrutura química da cripticina.....	41
FIGURA XII: Estrutura química do metabolito secundário ácido ambuico	42
FIGURA XIII: Estrutura química da jesterona, um metabolito com atividade contra oomicetos.	42
FIGURA XIV: Estrutura química da pestacina.....	44
FIGURA XV: Estrutura química da isopestacina.....	44
FIGURA XVI: Estrutura química do metabolito, de origem fenólica, grafislactona A.....	45

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA I: Tabela síntese que correlaciona os metabolitos secundários produzidos pelos respectivos fungos endofíticos e plantas donde são extraídos. Os metabolitos secundários produzidos pelos fungos endofíticos podem ter diferentes ações terapêuticas, nomeadamente, anticancerígenas, antimicrobianas, antivirais, antifúngicas, antioxidantes e até mesmo antidiabéticas e imunossupressoras..... 69

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>CIM</i>	Concentração Inibitória Mínima
<i>COV</i>	Compostos Orgânicos Voláteis
<i>CPT</i>	camptotecina
<i>DNA</i>	do inglês “ <i>deoxyribonucleic acid</i> ”; em português significa ácido desoxirribonucleico
<i>FDA</i>	<i>Food and Drug Administration</i>
<i>IL-6</i>	Interleucina 6
<i>hCMV</i>	Citomegalovirus Humano
<i>HCPT</i>	10-hidroxicamptotecina
<i>HIV</i>	do inglês “ <i>Human Immunodeficiency Virus</i> ”, em português significa Vírus da Imunodeficiência Humana
<i>HPLC</i>	do inglês “ <i>High Performance Liquid Chromatography</i> ”, em português significa Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<i>MCPT</i>	9-metoxicamptotecina
<i>PDT</i>	Podofilotoxina
<i>RMN</i>	Ressonância Magnética Nuclear
<i>RNA</i>	do inglês “ <i>ribonucleic acid</i> ”; em português significa em ácido ribonucleico
<i>TNF-α</i>	do inglês “ <i>Tumoral Necrose Factor - Alfa</i> ”; em português significa Factor de Necrose Tumoral - Alfa

GLOSSÁRIO

- Actinomicetes*** bactérias de Gram Positivo que apresentam crescimento filamentosos. Encontrados, predominantemente, no solo e reconhecida fonte de vários metabolitos, antibióticos e compostos bioativos secundários que afetam o crescimento microbiano (Chaudhary et al., 2013)
- CIM*** concentração de agente antimicrobiano a partir do qual não se verifica crescimento celular
- Carcinogénese*** “produção de cancro ou conjunto de alterações que levam à indução do cancro” (*carcinogénese* in Dicionário de Termos Médicos)
- Corpos de Woronin*** corpo granular arredondado, delimitado por uma membrana dupla, encontrado, normalmente, nas hifas dos fungos filamentosos Ascomycota (*Woronin body* in A Dictionary of Biology)
- Fumigação*** “produção de fumos ou vapores com desinfetantes ou medicamentos com fins terapêuticos. A fumigação é também utilizada como processo de destruição de insetos ou de parasitas” (*Fumigação* in Dicionário de Termos Médicos)
- IC₅₀*** a metade da concentração inibitória máxima mede a eficácia de uma substância na inibição de uma função biológica ou bioquímica específica. Esta medida indica a quantidade de um fármaco ou outra substância capaz de inibir em metade um dado processo biológico
- Senescência*** condição ou qualidade do que está a envelhecer; processo de envelhecimento (*Senescência* in Dicionário da Língua Portuguesa com Acordo Ortográfico)

THP-1 linha celular monocítica humana derivada de um paciente com leucemia monocítica aguda. É usado para testar as linhas celulares de leucemia em análise imunocitoquímica de interação proteína-proteína, e imuno-histoquímica (Tsuchiya et al., 1980)

INTRODUÇÃO

Os microrganismos desempenham um papel fundamental na vida do ser humano. Embora alguns sejam causadores de patologias, a maioria tem um contributo essencial na nossa saúde e bem-estar, sendo responsáveis pela fixação de gases e pela degradação de plantas mortas e matéria animal transformando-as em substâncias mais simples que são reutilizadas no início da cadeia alimentar (Microbiology Society, s.d.).

Oitenta e oito anos após a descoberta da penicilina em 1928, os cientistas continuam a investigar a origem e a obtenção de produtos naturais (Deshmukh, Verekar e Bhawe, 2015). De acordo com Demain e Sanchez (2009), dos “22.500 compostos biologicamente ativos obtidos a partir de micróbios, 45% são produzidos por actinomicetes, 38% por fungos e 17% por bactérias unicelulares”. As estatísticas demonstram o papel fundamental da natureza como fonte de moléculas com enorme diversidade química e biológica, nomeadamente na produção de antibióticos e outros medicamentos para tratamento de patologias graves (Specian, Orlandelli, Felber, Azevedo e Pamphile, 2014).

O desenvolvimento de resistências a fármacos em microrganismos e células tumorais tem-se vindo a tornar uma realidade e um problema de saúde pública, requerendo com urgência pesquisas e inovações para resolver a questão (Demain e Sanchez, 2009). Neste sentido, ao longo das últimas décadas, os estudos na área da biotecnologia têm vindo a ganhar terreno na pesquisa de novos compostos bioativos. O interesse nas plantas renovou-se devido à descoberta de microrganismos endofíticos, isto é, bactérias e/ou fungos que vivem dentro dos tecidos da planta viva e, geralmente, não causam danos aparentes no hospedeiro, sendo por isso referidos como endossimbiontes (Christina, Christopher e Bhore, 2013).

O termo “endófito” ou “endofítico” foi introduzido, pela primeira vez, por De Bary, em 1866, para descrever todos os organismos vivos que se encontravam em tecidos de plantas. Esta definição tem vindo a sofrer ajustes consoante os avanços biotecnológicos e os microrganismos endofíticos têm vindo a ser referenciados em plantas medicinais, ervas daninhas, árvores ornamentais e frutíferas quer selvagens quer domesticadas. Tanto as bactérias como os fungos endofíticos podem coexistir numa única planta hospedeira (Christina et al., 2013).

É sabido desde o início que os microrganismos *per si* são capazes de produzir variados metabolitos primários, como aminoácidos, vitaminas e nucleótidos mas, para além disso, são também capazes de sintetizar metabolitos secundários que representam

cerca de metade dos compostos farmacêuticos presentes no mercado, bem como uma fonte de metabolitos utilizados em produtos para fins agrícolas (Demain e Sanchez, 2009).

Nos últimos anos, os fungos endofíticos têm-se destacado na produção de metabolitos bioativos com interesse na biotecnologia alimentar e farmacêutica, estimulando o interesse da comunidade científica (Specian et al., 2014).

Estes alojam-se no interior das plantas a partir das raízes e partes aéreas das plantas, tais como folhas, flores e caules. Após penetração no hospedeiro, residem dentro das células, nos espaços intercelulares ou no sistema vascular (Christina et al., 2013) e, durante um longo período de coevolução, os fungos endofíticos adaptam-se aos seus microambientes de forma gradual através de variações genéticas, incluindo a absorção de alguns segmentos de DNA vegetal nos seus próprios genomas e *vice-versa*. Por esta razão, alguns microrganismos endofíticos têm a capacidade de biossintetizar compostos originalmente associados às plantas hospedeiras (Stierle, Strobel e Stierle, 1993; Zhang, Song e Tan, 2006).

Os metabolitos secundários são compostos extracelulares secretados no meio de cultura, durante o crescimento e diferenciação de um organismo vivo e têm sido isolados e caracterizados. A complexidade dos metabolitos é inquestionável, no entanto, vários fatores tais como a especificidade sazonal e geográfica, a necessidade de terras de cultivo e a exploração seletiva de plantas medicinais para extração podem limitar a sua potencial utilização como fontes de interesse. A constatação de que os microrganismos endofíticos podem funcionar como fonte alternativa de metabolitos com ação anticancerígena, antimicrobiana e imunossupressora, e a crescente necessidade de encontrar alternativas para fazer frente às resistências de certos microrganismos a compostos já existentes no mercado, tem vindo a atrair a pesquisa de novas fontes de compostos bioativos com importância farmacêutica e com impactos ambientais menores (Astuti, Sudarsono, Nisak e Nugroho, 2014).

Nesta monografia, será referido o papel dos fungos endofíticos e sua utilização na produção de produtos com interesse farmacêutico.

1. ENQUADRAMENTO GERAL DO REINO FUNGI

A Micologia (do grego *mykes* + *logos* que significa “estudo dos cogumelos”) é hoje conhecida como a ciência que estuda os fungos. Ao longo de vários anos, esta foi uma ciência que se dedicava apenas ao estudo dos cogumelos, uma vez que estes eram os únicos fungos conhecidos (Freitas, 2010).

1.1 IMPORTÂNCIA

Os fungos podem ser simples seres unicelulares ou organismos multicelulares muito complexos. São seres ubiqüitários, no entanto a maioria vive no solo ou em material de origem vegetal.

Estes microrganismos desempenham um papel fundamental na vida do ser humano, sendo responsáveis pela decomposição de matéria orgânica, interferindo no ciclo do carbono, do azoto e de outros nutrientes existentes na biosfera. Alguns assumem uma ação parasitária nas plantas causando-lhes doenças como mofo, ferrugem, crostas ou cancro. Na agricultura os fungos, quando patogénicos, podem conduzir a perdas monetárias significativas (Microbiology Society, s.d.; Freitas, 2010). No entanto, existem ainda os que vivem em associação benéfica e mutualista com outro organismo vivo a que chamamos fungos simbioses (Antoniolli e Kaminski, 1991).

É de ter em linha de conta que apenas um número muito pequeno de fungos causa doenças em animais. Nos seres humanos estas incluem, principalmente, doenças da pele tais como o pé de atleta, tinea ou aftas (Cole, 1996).

Para além disso, os fungos são seres utilizados nos mais diversos processos industriais desde a fermentação – no fabrico de pão, cervejas, vinhos e alguns queijos – à produção comercial de certos fármacos (ergometrina e cortisona), passando pela obtenção de certos antibióticos, como é exemplo a penicilina e a griseofulvina, e de substâncias imunossupressoras, como a ciclosporina (Freitas, 2010).

1.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS

Os fungos são microrganismos eucariotas (FIGURA I) e quimio-heterotróficos subdivididos com base nos seus ciclos de vida, a presença ou a estrutura do seu corpo de frutificação e a disposição e tipo de esporos (células reprodutivas ou distribuição) que produzem. Desta forma, reproduzem-se por esporos, podendo ser unicelulares ou leve-

duriformes (leveduras) e/ou filamentosos, tradicionalmente conhecidos por bolores (Microbiology Society, s.d.; Freitas, 2010).

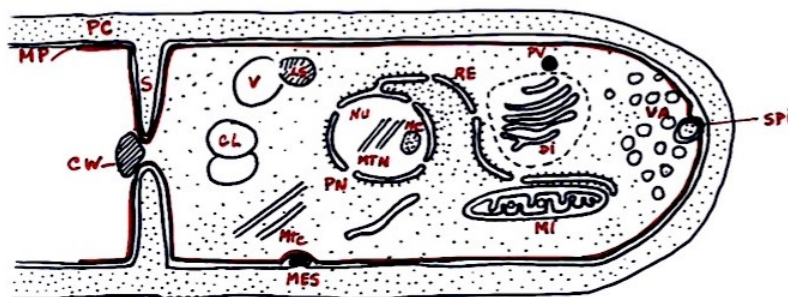


FIGURA I: Representação esquemática da estrutura das hifas e organelos nelas contidas: **CL:** Corpo Lipídico; **CW:** Corpo de Woronin; **DI:** Dictiossomas; **LS:** Lisossoma; **MES:** Mesossoma; **MI:** Mitocôndria; **MP:** Membrana Plasmática; **MTC:** Microtúbulos citoplasmáticos; **MTN:** Microtúbulos Nucleares; **NC:** Nucléolo; **NU:** Núcleo; **PC:** Parede Celular; **PV:** Provacúolo; **R:** Ribossomas; **RE:** Retículo Endoplasmático; **S:** Septo; **SPI:** ‘Spizenkörper’; **V:** Vacúolo; **VA:** Vesículas Apicais. Adaptado de Lima, s.d..

Os fungos possuem um corpo vegetativo denominado talo, que se encontra envolvido por uma parede rígida que confere a morfologia aos fungos. No caso dos fungos leveduriformes, o talo é formado por apenas uma célula. Por sua vez, nos fungos filamentosos, o talo é composto por finos filamentos unicelulares denominados hifas (Freitas, 2010).

As hifas crescem por prolongamento das suas extremidades, sendo cada uma delas capaz de se autorregenerar em caso de quebra. A hifa encontra-se dividida em várias porções das quais se destacam a porção por onde o fungo obtém os alimentos – hifa vegetativa – e a porção envolvida na reprodução – hifa reprodutiva ou aérea (Tortora, Case e Funke, 2016). No seu conjunto, as hifas formam uma rede microscópica junto ao substrato (fonte de alimento) chamada micélio por onde é absorvido o alimento, já previamente decomposto a partir de enzimas digestivas secretadas na ponta da hifa (Cole, 1996; Freitas, 2010).

No que diz respeito aos fungos filamentosos, as hifas podem ser asseptadas ou cenocíticas quando o protoplasma se observa contínuo e multinucleado (FIGURA II). É característico deste tipo de hifas o aparecimento de septos sem poros (totais) responsáveis pela separação das diferentes porções da hifa, delimitando estruturas reprodutoras e isolando zonas danificadas (funções protetoras). Existem também outros casos em que a hifa se apresenta septada, isto é, em que o citoplasma é interrompido de forma regular por septos (invaginações interiores da parede) que dividem as hifas em compartimentos

ou “células” (FIGURA II). Neste tipo de hifas os septos são perfurados, permitindo a passagem do citoplasma e dos seus organitos através deles (Freitas, 2010).

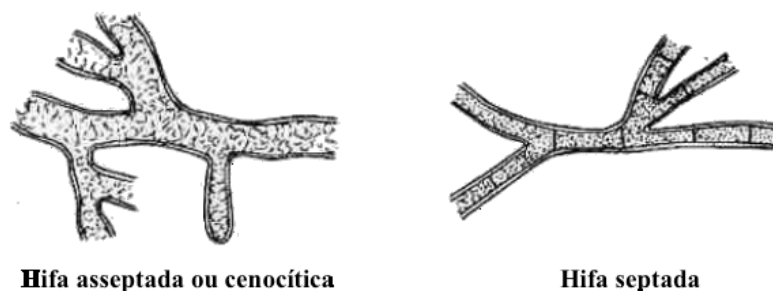


FIGURA II: Representação dos dois tipos de hifas. Adaptado de Pedroso, 2015.

Tanto os fungos filamentosos como os leveduriformes possuem uma parede celular que lhes confere proteção contra danos mecânicos bloqueando a entrada de macromoléculas tóxicas. A parede celular fúngica revela-se, assim, de extrema importância na sobrevivência do fungo, apresentando-se como uma interface entre o fungo e o seu ambiente e como sítio de ligação para algumas enzimas (Cole, 1996). Para além disso, possui propriedades antigénicas, de forma a permitir interações com outros organismos.

Os principais componentes químicos da parede celular são polissacáridos (cerca de 80%), associados a proteínas e lípidos, fazendo da parede um elemento estrutural altamente complexo e diferenciado, cuja composição química caracteriza os fungos em diferentes grupos taxonómicos: Ascomycota, Zigomicota, Basidiomycota, Deuteromycota (Freitas, 2010).

1.3 REPRODUÇÃO

Os fungos reproduzem-se a partir de esporos, ou seja, estruturas especializadas com uma camada protetora capaz de os proteger de condições ambientais adversas, tais como secagem e temperaturas elevadas (Microbiology Society, s.d). Os esporos podem ser diferenciados em assexuados e sexuados, responsáveis pela reprodução assexuada e sexuada, respetivamente.

Os fungos podem ainda reproduzir-se através de um fenómeno não muito comum, denominado reprodução vegetativa, requerendo para tal estruturas reprodutoras específicas. Para além disso, alguns dos fungos patogénicos para os seres humanos apresentam uma forma dimórfica, ou seja, numa parte da sua vida assumem a forma fi-

lamentosa e mais tarde, no seu ciclo de vida, assumem uma forma leveduriforme, é o caso da *Candida albicans* (Cole, 1996; Freitas, 2010).

1.3.1) Reprodução Assexuada

A reprodução assexuada dos fungos é considerada a forma de reprodução mais importante para a propagação da espécie, sendo que a forma assexuada é, também, denominada por estado anamorfo (Murray, Rosenthal e Pfaller, 2015).

Este tipo de reprodução dá origem a estruturas especializadas como os esporangiósporos (ou endósporos) ou conídios, também denominados exósporos (FIGURA III).

Por um lado, os esporangiósporos são produzidos no interior de um saco denominado por esporângio. Por sua vez, estes esporangiósporos, produzidos, essencialmente, por fungos pertencentes ao filo (do latim *phylum*) dos Zigomicota, podem classificar-se em móveis ou imóveis. Os imóveis, também denominados por aplanósporos, não apresentam flagelos e englobam os fungos patogénicos para o Homem, enquanto que os esporos móveis ou zoósporos, podem possuir entre um e dois flagelos (Freitas, 2010).

O esporângio é suportado por uma hifa diferenciada denominada esporangióforo e, em alguns casos, pela columela, uma estrutura estéril que separa a região esporulante fértil da não esporulante. No caso dos fungos do género *Rhizopus*, estes apresentam filamentos rizóides, isto é, ramificações curtas em forma de raiz (FIGURA III) (Freitas, 2010; Murray et al., 2015).

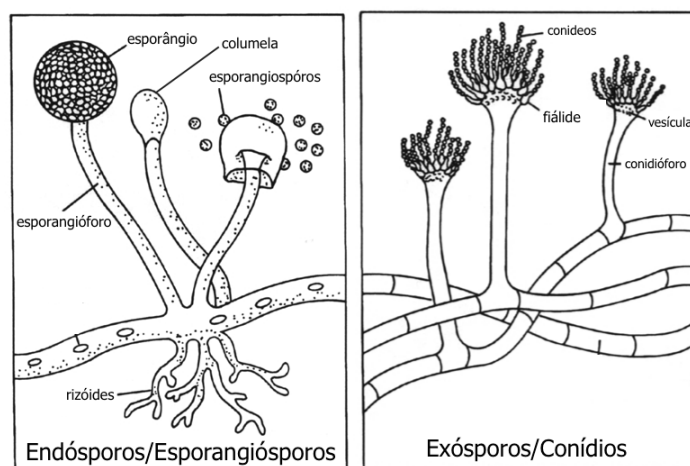


FIGURA III: Diferença entre esporangiósporos e conídios. Adaptado de García, 2014.

Por outro lado, os conídios, são produzidos por fungos pertencentes aos filos Ascomycota e Basidiomycota e à classe Deuteromycetes (*Fungi imperfecti*). A maioria dos fungos com importância clínica reproduz-se assexuadamente através de conídios,

sendo produzidos por células especiais, denominadas células conidiogéneas, assentes em estruturas diferenciadas, designadas conidióforos. A conidiogénese pode ser subdividida em conidiogénese tálica e conidiogénese blástica. Enquanto que na conidiogénese tálica o esporo já é evidente antes de se separar da hifa, na conidiogénese blástica os conídios são formados por separação das células individuais (Moore, Robson e Trinci, 2011).

1.3.2) Reprodução Sexuada e Divisão Taxonómica

A reprodução sexuada advém do conjunto de várias etapas do ciclo de vida do fungo incluindo plasmogamia, cariogamia e meiose. A plasmogamia compreende o processo pelo qual se unem os protoplasmas de duas células sexualmente compatíveis, originando uma única célula com dois núcleos (célula dicariótica). Consequentemente, a fusão dos dois núcleos – cariogamia –, origina um zigoto diplóide que sofre uma meiose, reduzindo o número de cromossomas e devolvendo o carácter haplóide às quatro células formadas, sendo estas sujeitas a uma ou mais mitoses.

Nos fungos homotáticos, as hifas são capazes de se diferenciarem em órgãos sexuais (macho e fêmea) e de se reproduzirem sexualmente de forma totalmente independente. Por outro lado, os fungos heterotáticos necessitam de um outro fungo, sexualmente compatível, para se reproduzirem sexuadamente.

A forma sexuada ou perfeita de um fungo é, também, denominada forma teleomorfa e, os fungos com reprodução sexuada, encontram-se divididos em Zigomicota, Ascomicota e Basidiomicota, consoante as estruturas reprodutoras a que dão origem.

- ***Filo Zigomicota***

Neste filo estão incluídos os fungos saprófitas do solo e parasitas de mamíferos e plantas. Apresentam hifas cenocíticas e reproduzem-se sexualmente por zigósporos – esporos sexuais, formados a partir de zigosporângios. Os zigósporos em condições apropriadas, sofrem meiose, germinam e originam esporangióforos e esporângios (Freitas, 2010; Murray et al., 2015).

- ***Filo Ascomicota***

O filo Ascomitota integra fungos saprófitas, simbiontes e parasitas do Homem, do animal e das plantas. As hifas são, na grande maioria dos casos, septadas

podendo, os septos, serem fechados por elementos especiais, denominamos Corpos de Woronin (FIGURA I). Agrupa os fungos cuja reprodução sexuada se faz por ascósporos, contidos em estruturas com a forma de saco, denominadas ascos, podendo estes ser produzidos livremente ou estar contidos em estruturas específicas, denominadas ascocarpos (Freitas, 2010).

- ***Filo Basideomicota***

Por último, o filo Basideomicota inclui fungos saprófitas, simbiontes e parasitas cujo talo pode ser unicelular ou formado por um micélio septado. Neste filo, os septos assumem uma forma especial e característica de barril e designam-se por doli-poros. Agrupa todos os fungos que se reproduzem sexualmente por basidiósporos, formados externamente em estruturas especiais, denominadas basídios, sendo que muitos fungos produzem os seus basídios em basidiocarpos (Freitas, 2010).

Nos seus antepassados, a divisão por grupos taxonómicos baseava-se na análise comparativa da morfologia das estruturas sexuais. No entanto, a comunidade científica sentiu necessidade de ajustar esses parâmetros considerando os resultados obtidos pela aplicação das técnicas de sequenciação dos ácidos nucleicos e, muito especialmente, a dos genes do RNA ribossomal dos diferentes fungos analisados. Assim, embora, a divisão taxonómica dos fungos seja um assunto bastante controverso ainda nos dias de hoje, é possível dividir o Reino *Fungi* em quatro grandes filios: Zigomicota, Ascomicota, Basideomicota e Deuteromicota (Freitas, 2010).

O filo *Deuteromycota* tem dividido opiniões na comunidade científica no sentido de o considerar como filo ou de o incluir noutros já considerados como principais. Considera-se, assim, que dele fazem parte os fungos dos quais não se conhece o estado teleomorfo e onde se incluem fungos saprófitas, simbiontes ou parasitas. A reprodução sexuada faz-se através de conídios provenientes de diferentes células conidiogéneas, originando diferentes tipos de conídios, elementos decisivos no posicionamento taxonómico destes fungos (Freitas, 2010).

2. MICRORGANISMOS ENDOFÍTICOS

O termo “endofítico” introduzido por De Bary (1866) foi, durante algum tempo, aplicado a “qualquer organismo que se encontrava nos tecidos da planta” (citado por Hyde e Soyong, 2008).

Partindo-se do pressuposto anterior e considerando os avanços biotecnológicos, chegou-se à conclusão que os microrganismos endofíticos incluem fungos e bactérias que colonizam os espaços inter e/ou intracelulares de diferentes tecidos, vivendo, geralmente, numa relação de simbiose e/ou mutualismo (Guo, Wang, Sun e Tang, 2008). Desta forma, “os microrganismos produzem ou induzem a produção de metabolitos primários e secundários, que podem conferir diversas vantagens à planta, como o aumento da tolerância a situações de stress abiótico, diminuição do ataque de herbívoros e insetos e controlo de outros microrganismos. Em contrapartida, a planta garante ao microrganismo endofítico os nutrientes necessários à sua sobrevivência, abrigo e transferência às próximas gerações” (Pimentel, Molina, Dionísio, Junior e Pastore, 2011; Specian et al., 2014).

Estes microrganismos podem ser isolados de flores, frutos, folhas, caules, raízes e/ou sementes e colonizam o hospedeiro a partir de aberturas ou por invasão de feridas utilizando enzimas hidrolíticas, tais como a celulase e a pectinase (Zhang et al., 2006).

2.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS

Hawksworth e Rossman (citado por Strobel e Daisy, 2003) contabilizaram a existência de mais de 1 milhão de espécies de fungos, dos quais apenas cerca de 100 mil estão descritos. Specian et al. (2014) afirmaram que, “se considerarmos que das 300 mil espécies de plantas que existem na terra, cada uma hospeda, no interior dos seus tecidos, um ou mais fungos endofíticos, há grandes possibilidades de encontrar novos microrganismos entre os milhares de espécies de plantas existentes nos diferentes ecossistemas terrestres e aquáticos, constituindo-se numa fonte rica em diversidade genética e, possivelmente, de novos produtos naturais.”

Desde os primeiros relatos de isolamento do *Lolium temulentum* (conhecido por Darnel) por Freeman (1904), para o mais recente do musgo *Antarctic* (Melo et al., 2014), os fungos endofíticos têm atraído o interesse de inúmeros investigadores nas áreas da botânica, química, ecologia, micologia, fitologia e farmacologia.

Conforme já referido, os microrganismos endofíticos e, neste caso em particular, os fungos endofíticos, residem em tecidos internos das plantas vivas, mas esta associação não causa quaisquer efeitos negativos imediatos e/ou evidentes sobre a planta hospedeira (Bacon e White, 2000).

De acordo com Aly, Debbab e Proksch (2011), a relação de acolhimento microrganismo endofítico-planta é continuamente simbiótica e equilibrada. No entanto, os fungos endofíticos que permanecem em repouso dentro dos hospedeiros podem tornar-se patogênicos em casos em que sofram senescência (Rodriguez e Redman, 2008).

Durante o longo período de coevolução, os fungos endofíticos estabelecem relações de mutualismo e adaptam-se aos seus microambientes de forma gradual através de mecanismos de variação genética, incluindo processos de absorção de alguns segmentos de DNA vegetal nos seus próprios genomas e *vice-versa*, existindo, por isso, fungos com capacidade de biossintetizar alguns compostos originalmente associados às plantas hospedeiras (Stierle et al., 1993; Zhang et al., 2006; Alvin, Miller e Neilan, 2014).

A cultura de células em meio de cultura apropriado para as células fúngicas é relativamente simples, de baixo custo, com fornecimento abundante, e o custo de produção é relativamente baixo. O processo de fermentação microbiana pode fornecer as melhores condições de crescimento e de criação, e os diversos parâmetros de cultura podem ser estritamente controlados satisfazendo as necessidades do ensaio a realizar (Zhao et al., 2009).

Num passado ainda recente, o isolamento de compostos bioativos provenientes de fontes naturais era visto como uma via demorada e ineficiente na descoberta de fármacos. No entanto, a taxa de fracionamento guiado por bioensaio melhorou significativamente com os avanços das tecnologias e, conseqüentemente, dos instrumentos de trabalho, como é o caso da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), espectrometria de massa, instrumentos de ressonância magnética nuclear (RMN) com um maior campo de resistência magnética e tecnologia robótica (Salim e Kinghorn, 2008 citado por Alvin, Miller e Neilan, 2014). Por exemplo, os compostos cuja disponibilidade estava limitada nos seus organismos de origem são agora possíveis de detetar com a introdução de espectroscopia de RMN capilar e o desenvolvimento de técnicas automáticas de triagem (do inglês “*screening*”) com alto rendimento, vieram substituir os bioensaios como um passo limitante da taxa de descoberta de fármacos (Walters e Namchuk, 2003 citado por Alvin, Miller e Neilan, 2014). Neste sentido, os avanços tecnológicos e científicos

têm vindo a aumentar o número de compostos bioativos de fonte natural (Alvin, Miller e Neilan, 2014).

Em resumo, os fungos endofíticos são um recurso microbiano importante para a produção de compostos bioativos originários dos seus hospedeiros, sendo uma população de microrganismos que tem vindo a atrair as atenções de muitos investigadores no estudo teórico, bem como em simulações práticas, uma vez que os recursos tecnológicos disponíveis permitem cada vez mais poupança de tempo e aumento de rendimento na obtenção de recursos.

3. INTERESSE FARMACÊUTICO DOS FUNGOS ENDOFÍTICOS

Os fungos endofíticos fornecem uma grande variedade de metabolitos secundários bioativos com estruturas únicas, incluindo alcalóides, benzapiranonas, quinonas, flavonóides, ácido fenólico, esteróides, terpenóides, xantonas e outros. Estes metabolitos bioativos têm variadas aplicações a nível agroquímico, antibióticos, agentes imunossupressores, antiparasitários, antioxidantes e anticancerígenos (Pimentel et al., 2011).

A produção de uma molécula bioativa por um fungo endofítico que era apenas encontrada em determinadas espécies vegetais, comprova a teoria de que durante a colonização da planta hospedeira esses organismos se adaptam ao microambiente vegetal e assimilam parte do DNA da planta no seu genoma, constituindo um processo de coevolução, no qual os microrganismos endofíticos adquirem dos seus hospedeiros a capacidade de biossíntese de compostos bioativos. Outras teorias assumem que o inverso também é verdade, de modo que parte do DNA microbiano, durante um processo de coevolução, foi assimilado pelo genoma da planta e, o que era uma exclusividade do fungo endofítico, passa a ser do seu hospedeiro também (Esposito-Polesi, 2011).

A utilização de metabolitos sintetizados por fungos endofíticos na indústria farmacêutica tornou-se evidente no século XX com a descoberta da produção do diterpenóide Taxol pelo fungo endofítico *Taxomyces andranea* (Specian et al., 2014). Mas, uma das principais preocupações a nível médico e farmacêutico continua a ser a descoberta de novos fármacos que causem menos efeitos adversos e toxicidade nos tecidos humanos (Selim, El-Beih, AbdEl-Rahman e El-Diwany, 2012).

Dreyfuss and Chapela (1994) assumiram que diferentes condições físicas e diferentes situações biológicas na natureza podem alterar o comportamento dos micróbios e favorecer a produção de diversos tipos de metabolitos secundários. A investigação de isolados fúngicos a partir de nichos ecológicos diferentes do solo pode levar à investigação de novos grupos de fungos com novos e diversos metabolitos secundários. Até 2003, foram descritos aproximadamente 4000 metabolitos com atividade biológica a partir de fungos endofíticos (Hyde e Soyong, 2008; Selim et al., 2012).

Os metabolitos secundários sintetizados a partir de fungos endofíticos têm demonstrado um largo espectro de atividade tendo diversas utilizações na indústria farmacêutica. A título de exemplo, a filirina (do inglês “*phyllirin*”), uma lignana da planta *Phyllirea* e do arbusto usado na medicina tradicional chinesa *Forsythia suspensa*, exibe

propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antipiréticas (Kong, Zhang, Guo, Lu e Li, 2014).

3.1 COMPOSTOS ANTICANCERÍGENOS

O cancro é uma das doenças mais letais resultante de uma anormal proliferação de células. Afeta milhões de pessoas em todo o Mundo, sendo inquestionável a investigação constante de novos tratamentos e/ou fármacos que melhorem a qualidade de vida dos doentes.

Um dos principais, e mais comuns, métodos de tratamento destas patologias centra-se na rutura do ciclo de divisão celular das células malignas. Tradicionalmente, a terapia do cancro tem sido baseada no princípio de que as células tumorais se encontram frequentemente em divisão, sendo assim mais sensíveis à disrupção do ciclo celular do que as células normais (Barbie e Frank, 2008). No entanto, os agentes usados no tratamento do cancro apresentam atividade citostática, com possíveis efeitos citotóxicos. Este facto constitui uma grande desvantagem destes agentes pois, apesar de realizarem a sua função de eliminação das células malignas, são capazes de interagir com o desenvolvimento de células provenientes de tecidos em proliferação normal, o que leva a variados efeitos secundários (Lüllmann, Mohr, Ziegler e Bieger, 2000).

Ao longo dos últimos anos, a comunidade científica tem unido esforços para encontrar tratamentos e/ou fármacos que não sejam tão tóxicos ao organismo humano. Neste sentido, os compostos bioativos produzidos por microrganismos endofíticos poderão vir a ser uma abordagem alternativa para a produção e investigação de novas moléculas de fármacos, uma vez que existem várias evidências de metabolitos secundários produzidos por este tipo de microrganismos com ação anticancerígena (Pimentel et al., 2011).

3.1.1) Paclitaxel e Análogos

O primeiro grande grupo de agentes anticancerígenos produzidos por microrganismos endofíticos foi o paclitaxel, tradicionalmente conhecido como Taxol[®], e seus derivados (Strobel e Daisy, 2003). O paclitaxel (C₄₇H₅₁NO₁₄) é um diterpenóide tricíclico (FIGURA IV), um composto bioativo altamente funcional que reduz ou interrompe o crescimento das células cancerosas e sua disseminação pelo organismo, na medida em que evita a despolimerização da tubulina e, conseqüentemente, interfere com a replica-

ção das mesmas (Pimentel et al., 2011; Strobel, Daisy, Castillo e Harper, 2004; Sudha, Govindaraj, Baskar e Al-dhabi, 2016; Zhao et al., 2010). A FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou o desenvolvimento e comercialização do taxol para o tratamento de estadios de cancro avançados, uma vez que foi provado que este composto tinha uma ação eficiente contra os cancros da mama, fígado, próstata e ovário (Pimentel et al., 2011; Zhao et al., 2010).

O paclitaxel foi isolado pela primeira vez em 1971 a partir de cascas da árvore *Taxus brevifolia*, tornando-se esta planta a fonte principal de recurso a este composto (Wani, Taylor, Wall, Coggon e McPhail, 1971). No entanto, para além das árvores *Taxus brevifolia* serem raras, têm um crescimento lento e produzem pouca quantidade de taxol (Strobel et al., 2004) levando ao desenvolvimento de novas técnicas de cultivo, cultura de tecidos e de células da planta e síntese química de paclitaxel de forma a aumentar o rendimento (Zhao et al., 2010; Zhou e Wu, 2006). Apesar disso, estas condições de produção de paclitaxel continuam a não ser as mais rentáveis por se tratarem de técnicas de produção dispendiosas tanto a nível de tempo como económico.

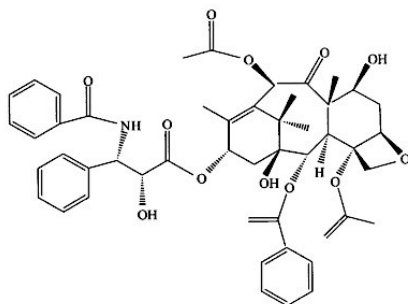


FIGURA IV: Paclitaxel (taxol), o primeiro fármaco anticancerígeno conhecido, é produzido por variadas espécies de fungos endofíticos. Retirado de Strobel et al., 2004.

Com os estudos de Stierle, Strobel e Stierle (1993), foi isolado, a partir da planta *T. brevifolia*, o fungo endofítico *Taxomyces andreanae* produtor de paclitaxel, ficando assim demonstrada a importância dos fungos endofíticos de plantas na produção de novos compostos. Este estudo foi o grande impulsionador para que, nas últimas décadas, se tenha verificado um grande desenvolvimento das técnicas de obtenção e melhor rentabilização de paclitaxel, nomeadamente, a procura de novos fungos endofíticos a partir da espécie *Taxus* passando pela procura de novas espécies de plantas, processos de fermentação microbiana ou mesmo técnicas de engenharia genética (Zhao et al., 2010). Após todos os anos de investigação, o paclitaxel e os seus análogos (isto é, bacatina III,

10-diacetilbacatina III) foram encontrados em diferentes gêneros de fungos endofíticos que podem ou não estar associados a plantas: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botryodiplodia*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Ectostroma*, *Fusarium*, *Metarhizium*, *Monochaetia*, *Mucor*, *Ozonium*, *Papulaspora*, *Periconia*, *Pestalotia*, *Pestalotiopsis*, *Phyllosticta*, *Pithomyces*, *Taxomyces*, *Tubercularia* (Pimentel et al., 2011; Zhao et al., 2010).

Recentemente, em 2012, Mirjalili e colaboradores, identificaram o fungo endofítico *Stemphylium sedicola* SBU-16 da casca interna de *Taxus baccata* com o gene *Taxus* taxadieno sintetase (ts), gene este que codifica a enzima catalizadora do primeiro passo comprometido aquando da biossíntese de paclitaxel (Selim et al., 2012).

3.1.2) Ácido Torreiano

Um outro agente anticancerígeno isolado do fungo endofítico *Pestalotiopsis microspora* a partir da planta *Taxus taxifolia* (Florida Torreya) é o ácido torreiano (do inglês “*torreianic acid*”), uma quinona dimérica (FIGURA V). Este composto foi testado em diversas linhas celulares de cancro e demonstrou, segundo os estudos de Lee, Strobel, Lobkovsky e Clardy (1996), ter citotoxicidade seletiva atingindo uma potência de 5 a 10 vezes superior nessas linhas de células que são sensíveis à quinase C, provocando-lhes a morte celular por apoptose. Recentemente, com os estudos de Li, Johnson e Porco (2003), completou-se com sucesso a síntese total de ácido torreiano utilizando para tal uma cascata de oxidação-dimerização biomimética.

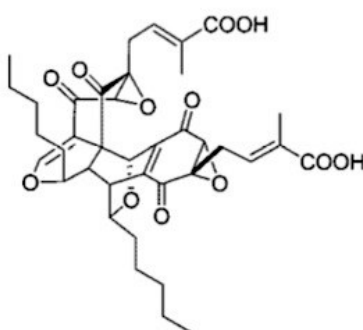


FIGURA V: Estrutura química do ácido torreiano. Retirado de Ding et al., 2009.

3.1.3) Ergoflavina

Um outro fungo endofítico da família dos Ascomycetes foi isolado das folhas de uma planta medicinal indiana da família *Sapotaceae* (*Mimosops elengi*). Este fungo endofítico tem a capacidade de produzir ergoflavina (C₃₀H₂₆O₁₄), uma xantina dimérica

ligada na posição 2 (FIGURA VI) pertencente à classe de compostos das ergocromas, e que apresenta propriedades anticancerígenas (Deshmukh et al., 2009). Os pacientes com estadios avançados de cancro possuem elevados níveis de Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e de Interleucina 6 (IL-6). Quando isolada por Deshmukh e seus colaboradores (2009), a ergoflavina inibiu a produção de TNF- α e IL-6 na presença de um lipopolissacárido (LPS) estimulado por uma linha celular monocítica (THP-1).

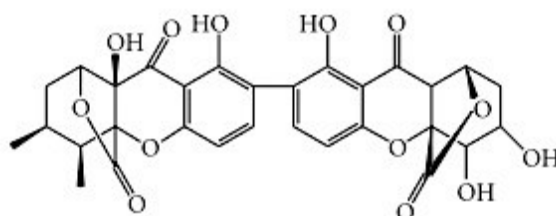


FIGURA VI: Estrutura da ergoflavina, um composto com propriedades anticancerígenas. Retirado de Pimentel et al., 2011.

3.1.4) Fenilpropanóides

Esta classe de compostos, onde se incluem os flavonóides, as cumarinas e as lignanas, pertence ao grupo de metabolitos secundários produzidos pelas plantas e têm diversas propriedades com interesse terapêutico, tais como anticancerígenas, antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e imunossupressoras.

Nos trabalhos desenvolvidos por Koshino et al. (1988), foram isolados dois novos compostos de fenilpropanóides e uma lignana a partir do fungo endofítico *Epichloe typhina* encontrado nos estromas da planta *Phleum pretense*.

Um outro exemplo indicador da produção de fenilpropanóides por fungos endofíticos é o caso de dois glucósidos monoglicóis (conferina e siringina) que, para além de serem produzidos pela planta hospedeira, foram também reconhecidos na espécie endofítica *Xylariaceae* como sinais químicos emitidos durante a interação fungo-planta (Shukla et al., 2014).

Em 2002, foi descoberto o fungo endofítico *Penicillium brasilianum* a partir da casca da raiz de *Melia azedarach* (*Meliaceae*), um grande promotor da biossíntese de amidas bisfenilpropanoídicas, nomeadamente, as brasiliamidas A e B (Fill, Silva e Rodrigues-Fo, 2010; Fujita, Makishima, Akiyama e Hayashi, 2002). Estas substâncias, classificadas como micotoxinas, apresentavam atividade convulsiva contra o bicho da seda (Fujita et al., 2002).

i. **Podofilotoxina**

A Podofilotoxina ($C_{22}H_{22}O_8$) e os seus análogos apresentam um espectro de ação terapêutica muito alargado devido às suas propriedades anticancerígenas, antivirais, antioxidantes, antibacterianas, imunoestimuladoras e anti-reumáticas, e ao facto de serem utilizados como precursores na síntese química de fármacos utilizados no tratamento do cancro, como é o caso do etopósido, teniposídeo e fosfato de etopofos (FIGURA VII) (Pimentel et al., 2011; Zhao et al., 2010).

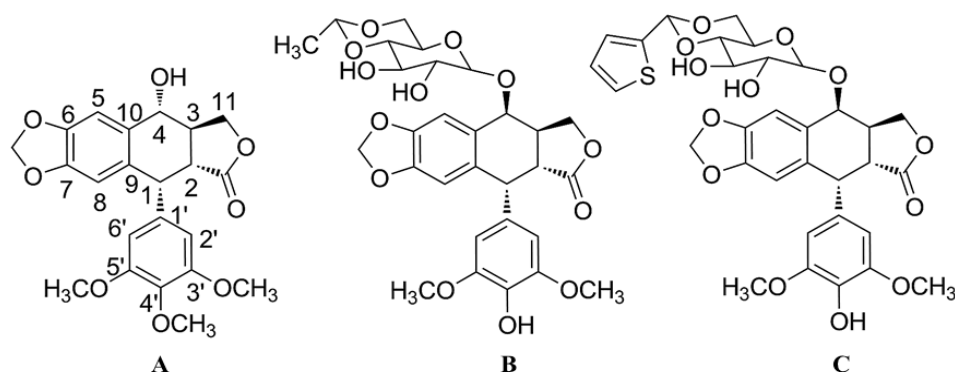


FIGURA VII: A podofilotoxina (A) é um precursor da síntese de fármacos como o etopósido (B) e o teniposídeo (C). Retirado de Zhang et al., 2015.

As lignanas ariltetralínicas, como é o caso da podofilotoxina (PDT), são sintetizadas a partir de plantas dos géneros *Diphylleia*, *Dysosma*, *Sabina* (ou *Jeniperus*) e *Podophyllum* (referido por alguns autores como *Sinopodophyllum*). No presente, a maior fonte de PDT é através das plantas que alojam *Podophyllum* no seu interior. No entanto, é necessário que sejam desenvolvidas novas técnicas de obtenção deste composto, uma vez que as espécies envolvidas estão ameaçadas devido à sobre-exploração podendo entrar em risco de extinção (Pimentel et al., 2011; Zhao et al., 2010).

Em 2003, foram descritos os primeiros fungos endofíticos produtores de podofilotoxina originários das plantas *Podophyllum hexandrum*, *Diphylleia sinensis* e *Dysosma veitchii* (Yang, Guo, Zhang e Shao, 2003). Mais tarde, descobriu-se que a podofilotoxina também poderia ser produzida pelo fungo endofítico *Alternaria* sp. obtido da planta *Sabina vulgaris* (Lu, He, Yu, Li e Zhang, 2006, citado por Zhao et al., 2010), no mesmo ano em que Eyberger, Dondapati e Porter (2006), a partir dos rizomas de *Podophyllum peltatum*, obtiveram dois fungos endofíticos *Phialocephala fortinii* (estirpes PPE5 e PPE7) capazes de produzirem entre 0,5 e 189 µg/L numa cultura em sus-

pensão líquida. Ainda em 2006, Puri e os seus colegas de trabalho, identificaram um fungo endofítico produtor de PDT (*Trametes hirsuta*, isolado a partir de *Sinopodophyllum hexandrum*) e um glicosídeo deste composto numa cultura em caldo de Sabouraud (Puri et al., 2006). Em 2007, Cao e os colegas reportaram a existência de um outro fungo endofítico (*Alternaria* sp.) isolado a partir de *Sinopodophyllum hexandrum* capaz de produzir PDT (Cao, Huang e Li, 2007 citado por Zhao et al., 2010).

Os estudos multiplicaram-se e novas fontes de obtenção de PDT foram surgindo: Kour et al. (2008) isolou o fungo *Fusarium oxysporum* da planta *Juniperus recurva* e, em 2009, Kusari, Lamshoft e Spiteller isolaram o fungo *Aspergillus fumigatus* Fresenius da planta *Juniperus communis* L., revelando ser um potencial produtor de desoxipodofilotoxina, um análogo com promissoras propriedades anticancerígenas, antiproliferativas e anti-inflamatórias (Khaled, Jiang e Zhang, 2013).

3.1.6) Alcalóides

Os alcalóides são considerados dos compostos mais potentes como agentes anticancerígenos e podem também ser sintetizados por fungos endofíticos. É o caso da cafeína, um alcalóide da classe das metilxantinas sintetizado a partir da planta *Coffea* spp., bem conhecida pelas suas propriedades psicoativas. A cafeína tem sido evidenciada em fungos endofíticos ainda não identificados e recuperados das plantas etnomedicinais indianas *Osbeckia chinensis*, *O. stellata* e *Potentilla fulgens* (Bhagobaty e Joshi, 2011).

i. *Camptotecina*

Um outro composto anticancerígeno que assume importância nos dias de hoje é a quinolina pentacíclica, camptotecina (FIGURA VIII), um alcalóide com elevado poder antineoplásico que foi inicialmente isolado da madeira de *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae) na China (Wall et al., 1966). A camptotecina (CPT) tem como principal função a inibição da enzima topoisomerase I intracelular, necessária na replicação do DNA e na transcrição (Hsiang, Hertzberg, Hecht e Liu, 1985).

A CPT ($C_{20}H_{16}N_2O_4$) e o seu análogo 10-hidroxicamptotecina (HCPT) foram considerados dois dos agentes antineoplásicos mais eficazes (Zhao et al., 2010). No entanto, a maior fonte deste composto bioativo continua a ser as árvores *Camptotheca acuminata* e *Nothapodytes nimmoniana* (Icacinaeae), sendo crucial reunir esforços para o desenvolvimento de estratégias para isolamento, separação de mistura e produção

de CPT e seus análogos a partir de fungos endofíticos, devido à crescente demanda deste composto (Amna et al., 2006; Pimentel et al., 2011; Shweta et al., 2010; Zhao et al., 2010)

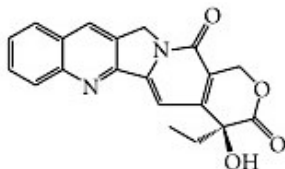


FIGURA VIII: Estrutura química da campotecina. Retirado de Pimentel et al., 2011.

Embora o seu uso tenha grande potencial em tratamentos médicos, a CPT não modificada apresenta baixa solubilidade em meios aquosos e grande toxicidade comprometendo desde logo a sua aplicação (Kehrer, Soepenber, Loos, Verweij e Sparreboom, 2001; Li, Zu, Shi e Yao, 2006). Neste sentido, existem já dois fármacos semi-sintéticos, sintetizados a partir da CPT, em uso clínico contra os cânceres do ovário, pulmão e refratário do ovário: o Hycamtin (topotecano) e o Camtostar (irinotecano) (Sirikantaramas, Asano, Sudo, Yamazaki e Saito, 2007).

Ao longo da última década foram vários os estudos realizados demonstrando a eficácia dos fungos endofíticos como fonte de obtenção e produção de camptotecina e seus análogos:

- Em 2005, é relatado pela primeira vez que o fungo *Entrophospora infrequens* obtido da planta *Nothapodytes foetida* tinha a capacidade de produzir CPT (Puri, Verma, Amna, Qazi e Spiteller, 2006), sendo que, mais tarde, foram efetuados estudos de cinética e biodisponibilidade, verificando-se acumulação de CPT nas culturas de *E. infrequens*, confirmando a teoria de que este microrganismo é uma potencial fonte alternativa do composto bioativo em causa (Amna et al., 2006).
- A partir das sementes da mesma planta citada no ponto anterior (*Nothapodytes foetida*) foi também descoberto um fungo endofítico produtor de CPT, de seu nome *Neurospora* sp. (Rehman et al., 2008).
- Em 2009, Kusari, Zühlke e Spiteller, descobriram que num caldo de Dextrose de Sabouraud, o fungo endofítico *Fusarium solani* obtido a partir de *Camptotheca acuminata*, era capaz de produzir dois análogos da CPT: 9-metoxicamptotecina (MCPT) e 10-hidroxycamptotecina. No mesmo ano, foi identificada a estirpe

XK001 de um fungo endofítico desconhecido capaz de produzir HCPT com um rendimento de 677 µg/g (ChangLi e XueJun, 2009 citado por Zhao et al., 2010).

- Mais recentemente, foram encontradas duas estirpes do fungo *Fusarium solani* (MTCC9667 e MTCC9668) capazes de produzirem 9-metoxicamptotecina com um rendimento de 0,45 µg/g, sendo que a estirpe MTCC9668 produzia também 10-hidroxycamptotecina com um rendimento de 0,08 µg/g (Shweta et al., 2010).
- Por outro lado, a produção de camptotecinas pode ser estimulada explorando os efeitos desencadeantes de alguns compostos orgânicos e inorgânicos, como é o caso do ácido salicílico que provocou um aumento de rendimento de HCPT a partir de uma estirpe de *Xylaria* sp. (Liu, Ding, Deng e Chen, 2010), e o caso do metil jasmonato que aumentou a produção de CPT a partir de uma estirpe de *T. atroviride* (Pu et al., 2013). Além disso, a produção de CPT pelo fungo *F. solani*, endofítico de *C. acuminata*, aumentou substancialmente quando lhe foi fornecido um extrato etanólico das folhas de *C. roseus* (Venugopalan e Srivastava, 2015).

ii. *Vimblastina e análogos*

A vimblastina e a vincristina são dois conhecidos agentes com propriedades anticancerígenas, derivados do acoplamento dos alcalóides vindolina e catarantina (FIGURA IX) na planta *Catharantus roseus*, também conhecida como vinca (Perez, Pardo e Gomez, 2002; Wang et al., 2010).

Estes compostos antineoplásicos interferem com “a formação dos microtúbulos e com a dinâmica do fuso mitótico, resultando na interrupção do transporte intracelular e diminuição do fluxo sanguíneo tumoral, provavelmente como consequência da anti-angiogénese” (Moore e Pinkerton, 2009; Perez et al., 2002 citado por Zhao et al., 2010).

No âmbito do estudo dos fungos endofíticos como fonte de metabolitos bioativos, a planta *Catharantus roseus* tem vindo a ser alvo de vários estudos na tentativa de encontrar fontes alternativas de vimblastina e vincristina; é o caso do fungo *Alternaria* sp. com a capacidade de produzir vimblastina (Guo, Li e Zhang, 1998); do fungo *Fusarium oxysporum*, isolado a partir do floema da planta, e capaz de produzir vincristina (Zhang et al., 2000); e de um outro fungo endofítico não identificado, estudado a partir de folhas da mesma planta, capaz de produzir, também, vincristina (Yang, Zhang, Guo e Guo, 2004).

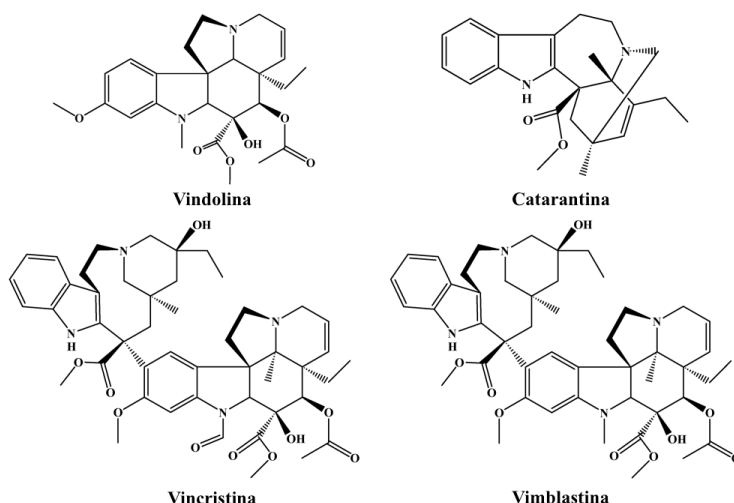


FIGURA IX: Estruturas químicas dos alcalóides provenientes de *Catharantus roseus*. Adaptado de Mu et al., 2012.

3.2 COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS

Os microrganismos endofíticos têm vindo a ser referenciados no que diz respeito à descoberta de novos fármacos com baixo peso molecular, como os antimicrobianos, uma vez que apresentam a capacidade de inibir ou eliminar uma grande quantidade de agentes patogénicos para o Homem e para os animais como é o caso de bactérias, fungos, vírus e protozoários (Demain e Sanchez, 2009; Strobel e Daisy, 2003). Para um melhor entendimento, no presente trabalho, foi opção abordar os compostos antimicrobianos como sendo aqueles com ação sobre bactérias e protozoários e os compostos antivirais e antifúngicos com ação sobre vírus e fungos, respetivamente.

Acredita-se que os microrganismos endofíticos assumem um mecanismo de resistência de forma a superar a invasão patogénica produzindo metabolitos secundários com atividade antimicrobiana. Desta forma, o *screening* de compostos antimicrobianos a partir de microrganismos endofíticos é uma forma promissora de superar a ameaça crescente de micróbios resistentes a fármacos de agentes patogénicos humanos e vegetais (Salim et al., 2012).

3.2.1) *Fomopsicalasina*

A fomopsicalasina é um metabolito isolado a partir do fungo endofítico *Phomopsis* sp., que apresenta atividade antibacteriana contra *Bacillus subtilis*, *Salmonella*

enterica serovar Gallinarum e *Staphylococcus aureus*, em ensaios de difusão em agar (concentração de 4 µg/disco), dos quais resultaram halo de inibição de 12mm, 11mm e 8mm, respetivamente. Para além disso, também exhibe atividade moderada – halo de inibição de 8mm – contra a levedura *Candida tropicalis* (Horn, Simmonds, Schwartz e Blaney, 1995).

3.2.2) Produzidos por *Colletotrichum* sp.

Isolado da planta *Artemisia mongolica*, o fungo endofítico *Colletotrichum gloeosporioides* produz ácido coletótrico, um metabolito com atividade antimicrobiana contra algumas bactérias e contra o fungo *Helminthosporium sativum* (Zou et al., 2000). A família *Colletotrichum* sp. tem também revelado ser uma boa fonte de metabolitos bioativos com atividade antimicrobiana. Por exemplo, o *Colletotrichum* sp., um fungo endofítico da planta *Artemisia annua* – uma erva chinesa reconhecida pela sua capacidade de sintetizar o fármaco antimalárico artemisinina – é capaz de produzir diversos metabolitos com atividade contra bactérias (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea* e *Pseudomonas* sp.) e fungos (*Candida albicans* e *Aspergillus niger*) patogénicos para o Homem. Para além disso, produz também metabolitos fungistáticos em relação aos fungos patogénicos de plantas *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Rhizoctonia cerealis*, *Helminthosporium sativum* e *Phytophthora capsici* (Lu, Zou, Meng, Hu e Tan, 2000).

3.2.3) Antibióticos Voláteis

A partir de pequenos ramos da árvore da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) foi isolado o fungo endofítico *Muscodor albus* (Worapong et al., 2001). Este fungo produz uma mistura de compostos orgânicos voláteis (COV) capaz de inibir e eliminar eficazmente outros fungos e bactérias. A maioria destes compostos foi identificada a partir de ensaios de cromatografia gasosa-espectrometria de massa, onde foi possível identificar cinco classes de compostos voláteis produzidos pelo fungo, exibindo individualmente algum efeito inibidor contra os fungos e bactérias submetidas ao teste e sem quaisquer indícios de efeitos letais. No entanto, foram testados sinergicamente com o intuito de causar a morte, em larga escala, de fungos e bactérias patogénicas para plantas e para o ser humano. Assim, os ésteres foram a classe que demonstrou mais eficácia a nível de

efeitos inibitórios, sendo que o acetato de isoamilo foi o mais biologicamente ativo (Strobel, Dirkse, Sears e Markworth, 2001).

M. albus surge assim como uma potencial alternativa mais ecológica aos pesticidas utilizados na fumigação, numa era em que o uso de brometo de metilo está a ser travado a nível mundial. Desta forma, o uso de *M. albus* para micofumigação para tratamento de solos, sementes e plantas pode ser uma breve realidade, dado que este produto já se encontra no mercado para descontaminação de resíduos humanos (Strobel e Daisy, 2003).

Posteriormente ao estudo de *M. albus*, foi possível isolar outros fungos endofíticos capazes de produzirem antibióticos voláteis, alguns com o mesmo grau de inibição e eliminação, do qual é exemplo o fungo *Muscodor roseus* isolado a partir de árvores existentes no Território Norte Australiano (Worapong et al., 2002).

Mais tarde, foi descoberto o fungo endofítico *Gliocladium* sp. capaz de sintetizar 1,3,5,7-ciclooctatetraeno ou [8]anuleno (do inglês “[8]annulene”), um composto capaz de inibir o crescimento fúngico. Assim, *Gliocladium* sp. demonstrou ser um fungo igualmente capaz de produzir antibióticos voláteis, no entanto, estes compostos têm um perfil completamente distinto dos produzidos pelos fungos *Muscodor*, não sendo ainda muito bem compreendidos quanto ao seu espectro de ação (Stinson, Ezra, Hess, Sears e Strobel, 2003 citado por Strobel e Daisy, 2003).

3.3 COMPOSTOS ANTIVIRAIS

Os compostos antivirais, tal como sugere a própria denominação, têm como principal função a inibição de vírus, podendo interferir com os processos de replicação dos mesmos. Na sua maioria, os fármacos antivirais são mais tóxicos para as células humanas do que os antibióticos, devendo-se ao facto da replicação dos vírus se processar no interior das células e de utilizarem as mesmas vias metabólicas que as células saudáveis (MSD, s.d.).

Os vírus são entidades capazes de desenvolver diversas resistências aos antivirais, sendo necessário um olhar mais atento da comunidade científica para a potencialidade dos fungos endofíticos como fontes naturais de compostos usados no tratamento de infeções causadas por vírus. Assim, em 2000, Guo et al. isolaram dois novos compostos inibidores da protease do Citomegalovirus Humano (hCMV), os ácidos citónicos A e B.

A procura de compostos com atividade antiviral a partir de microrganismos endofíticos é ainda muito recente e limitada, talvez devido à ausência de sistemas de rastreio de antivirais comuns na maioria dos programas utilizados para pesquisa de compostos (Shukla et al., 2014; Strobel e Daisy, 2003).

No entanto, ao longo do século XXI têm vindo a ser relatados vários compostos de interesse farmacológico no âmbito das infeções virais, corroborando a teoria de que os fungos endofíticos são uma fonte inexplorada:

- Os carvalhos apresentam uma vastíssima flora microbiana. Num dos estudos realizados, em 2004, por Singh et al. foi isolado um fungo, a partir das folhas de *Quercus coccifera*, capaz de sintetizar Hinnuliquinona, um potente inibidor da protease do Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV-1).
- Mais recentemente, o fungo endofítico *Pestalotiopsis theae* originário de uma árvore não identificada da Montanha Jianfeng na China, foi capaz de produzir Pestaloteol C, com propriedades anti-HIV (Li, Jiang, Guo, Zhang e Che, 2008 citado por Shukla et al., 2014)
- Em 2010, Arunpanichlert et al., investigaram os metabolitos secundários do fungo endofítico *Penicillium sclerotiorum* e isolaram o composto (+)-Esclerotiorina (do inglês “(+)-sclerotiorin”). Posteriormente, avaliaram o seu efeito inibitório sobre a integrase e a protease do HIV-1 verificando-se que exibia atividade de integrase e protease anti-HIV-1 com valores de IC₅₀ de 45,88 e 198,41 µM, respetivamente. Para além disso, demonstrou fraca atividade contra *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* com valores de CIM de 202,53 e 101,26 µM, respetivamente (Selim et al., 2012).
- Zhang e os seus colaboradores isolaram e elucidaram a estrutura da Emerimidina A e B a partir da cultura do fungo endofítico *Emericella* sp., e ambos demonstraram inibição moderada sobre o vírus *Influenza* H1N1 com valores de IC₅₀ de 42,07 e 62,05 mg/ml, respetivamente (Zhang, Sun, Zhu, Gu e Gu, 2011).

3.4 COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

As infeções por fungos são denominadas micoses e, de modo geral, podem ser divididas em infeções superficiais – que afetam a pele, as unhas, o couro cabeludo ou as mucosas – e infeções sistémicas – que afetam os tecidos e órgãos mais profundos. Muitos dos fungos passíveis de causar micoses vivem em associação com o homem como

comensais e estão presentes no meio-ambiente, sendo que este tipo de infecções é de difícil tratamento, podendo demorar semanas.

O estudo dos fungos endofíticos tem igualmente importância no campo das infecções fúngicas, uma vez que produzem também metabolitos secundários com ação antifúngica, é o caso dos fungos endofíticos *Cryptosporiopsis quercina*, *Pestalotiopsis microspora*, *Pestalotiopsis jesteri* e *Fusarium sp* (Strobel e Daisy, 2003).

3.4.1) Produzidos pelo fungo *Cryptosporiopsis quercina*

Tripterigeum wilfordii é uma planta medicinal existente na zona da Eurásia. A partir desta foi isolado o fungo endofítico *Cryptosporiopsis quercina* (fase imperfeita do fungo *Pezicula cinnamomea*), um fungo que, quando em meio de cultura em placas de Petri, apresentou grande atividade antifúngica contra fungos patogênicos como *Candida albicans* e *Trichophyllum spp.* (Strobel et al., 1999). A partir de *C. quercina* foi possível isolar a criptocandina, um composto peptídico antimicótico, e a criptocina, um ácido tetramico único (Li, Strobel, Harper, Lobkovsky e Clardy, 2000; Strobel et al., 1999).

A criptocandina (FIGURA X) apresenta uma série de aminoácidos hidroxilados peculiares e um novo aminoácido denominado 3-hidroxi-4-hidroximetilprolina. A criptocandina é um composto ativo contra vários fungos patogênicos de plantas, incluindo *Sclerotinia sclerotiorum* e *Botrytis cinerea*, sendo, para além disso, uma molécula bioativa relacionada com outros agentes antifúngicos sintetizados a partir do mesmo fungo endofítico e com outros já conhecidos como as equinocandinas e as pneumocandinas. Dado o seu poder antifúngico, a criptocandina e os compostos com ela relacionados estão a ser alvo de estudos com o objetivo de atuarem contra fungos causadores de doenças nas unhas e na pele (Strobel e Daisy, 2003).

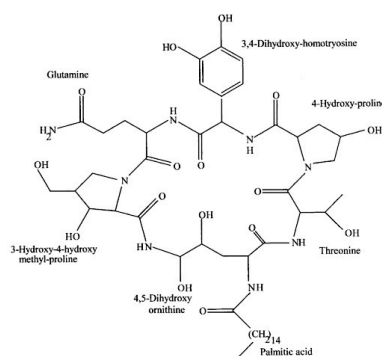


FIGURA X: Estrutura química da criptocandina A, onde está demonstrada a posição do aminoácido 3-hidroxi-4-hidroximetilprolina. Retirado de Strobel e Daisy, 2003.

A criptocina (FIGURA XI) é um composto peculiar que, embora não apresente grandes resultados em relação aos fungos patogênicos para o Homem, apresenta potente atividade antifúngica contra uma grande variedade de fungos patogênicos de plantas, nomeadamente, contra *Pyricularia oryzae*, um dos principais fungos patogênicos da planta do arroz capaz de causar doença e, conseqüentemente, com grande impacto a nível económico nas plantações de arroz (Li et al., 2000). Neste sentido, a criptocina tem vindo a ser examinada como agente de controlo químico natural e está a ser utilizada como modelo base para síntese de outros compostos antifúngicos (Strobel e Daisy, 2003).

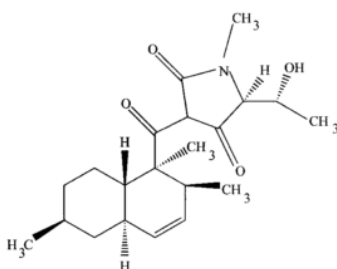


FIGURA XI: Estrutura química da criptocina. Retirado de Strobel e Daisy, 2003.

3.4.2) Produzidos por fungos *Pestalotiopsis* sp.

Pestalotiopsis microspora é um fungo endofítico da família *Amphisphaeriaceae* (Jeewon, Liew, Simpson, Hodgkiss e Hyde, 2003; Kang, Hyde e Kong, 1999) que, embora bastante comum nas florestas tropicais e subtropicais, apresenta uma enorme variedade bioquímica, sendo passível de sintetizar bastantes metabolitos secundários consoante a seleção das estirpes e das plantas que hospedam (Strobel e Daisy, 2003).

O ácido ambuico (FIGURA XII) é um dos metabolitos secundários com propriedades antifúngicas produzido por *P. microspora* e tem vindo a ser encontrado em vários isolados (Harper, Barich, Hu, Strobel e Grant, 2003; Li et al., 2001; Strobel, 2002).

A partir da casca de *Torreya taxifolia*, uma árvore em vias de extinção da América do Norte, foram isoladas diversas estirpes de *P. Microspora* com atividade antifúngica e propriedades fitotóxicas incluindo pestalosido (um β -glucósido aromático) e duas pironas: pestalopirona e hidroxipestalopirona (Lee, Yang, Schwartz, Strobel e Clardy, 1995).

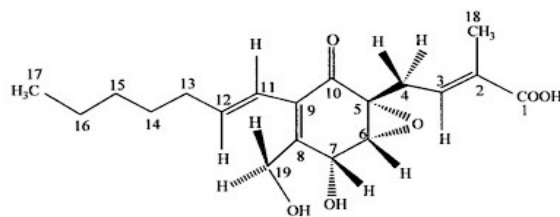
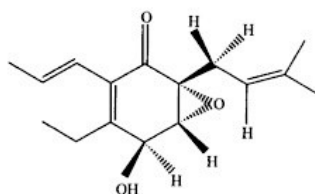


FIGURA XII: Estrutura química do metabolito secundário ácido ambuico. Retirado de Strobel e Daisy, 2003.

Pulici et al. (1996) isolaram dois novos cariofilenos sesquiterpenoides obtidos a partir de culturas de *P. Microspora*, um fungo endofítico da planta *T. brevifolia*: pestalotiopsina A e B. No mesmo ano, isolou-se, do mesmo fungo, um novo sesquiterpeno como o 2- α -hidroxidimeninol e um humulano bastante funcional (M. Pulici, Sugawara, Koshino, Uzawa e Yoshida, 1996; Maurizio Pulici et al., 1996a).

Existem estudos recentes sobre a importância de outros fungos endofíticos dentro do gênero *Pestalotiopsis*, é o caso do fungo *Pestalotiopsis jesteri*, originário da árvore *Terminalia morobensis*, que produz jesterona (FIGURA XIII) e hidroxijesterona, dois compostos com atividade contra Oomycetes, uma classe de organismos filamentosos que, na sua morfologia, se assemelham aos fungos (Li e Strobel, 2001).



FIGURAXIII: Estrutura química da jesterona, um metabolito com atividade contra Oomycetes. Retirado de Strobel e Daisy, 2003.

3.4.3) Produzidos por fungos *Fusarium* sp.

O gênero *Fusarium* é um grupo de fungos ubiqüitários e saprófitas do solo, plantas e substratos orgânicos. Ao longo dos anos tem vindo a ser relatado como agente patogénico nas plantas e, mais recentemente, também para o Homem, causando-lhe infeções fúngicas com altas taxas de morbilidade e mortalidade em pacientes imunodeprimidos (Alastruey-Izquierdo, Cuenca-Estrella, Monzón, Mellado e Rodríguez-Tudela, 2008). Apesar disso, os fungos do gênero *Fusarium* podem trazer benefícios, tal como mostra o estudo realizado por Brady e Clardy (2000), em que foi isolado um composto com atividade antifúngica a partir do fungo endofítico *Fusarium* sp. da planta *Selagin*-

lla pallescens, originária da Área de Conservação de Guanacaste na Costa Rica. A partir da cultura de crescimento do fungo foi isolado o agente CR377, um novo agente antifúngico pentaquetido, que demonstrou ter atividade contra *Candida albicans* em ensaios de difusão em agar realizados em culturas fúngicas (Brady e Clardy, 2000).

3.5 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES

Os compostos com atividade antioxidante apresentam grande importância a nível farmacológico, uma vez que são altamente eficazes contra os danos causados por espécies reativas ao oxigénio e pelos radicais livres do oxigénio, como é o caso de danos do DNA, degeneração celular e carcinogénese (Huang, Cai, Xing, Corke e Sun, 2007; Seifried, Anderson, Fisher e Milner, 2007).

Os antioxidantes possuem variadas propriedades, nomeadamente, anti-inflamatórias, anti-arteroscleróticas, antitumorais, antimutagénicas, anticancerígenas, antibacterianas, antivirais, entre outras (Esposito-Polesi, 2011). Assim, os antioxidantes têm vindo a assumir um papel bastante promissor na prevenção e tratamento de doenças como o cancro, doenças cardiovasculares, hipertensão, aterosclerose, diabetes mellitus, doenças neurodegenerativas (como é o caso das doenças de Alzheimer e de Parkinson), artrite reumatóide e assumem também um papel dermatocósmético importante no combate ao envelhecimento (Valko et al., 2007).

Normalmente, os antioxidantes naturais podem ser encontrados nas plantas com fins medicinais, em frutas e/ou verduras, mas também podem ter origem nos metabólitos secundários produzidos pelos microrganismos endofíticos, como tem vindo a ser relatado nos últimos anos.

Em 2007, Liu et al., reportaram que o extrato de metanol, isolado do fungo endofítico *Xylaria* sp. a partir da planta medicinal *Ginkgo biloba*, para além dos 41 compostos identificados, exibiu grande capacidade antioxidante devido à presença de fenóis e flavonóides. No mesmo ano, Huang et al., sugeriram que o conteúdo fenólico obtido a partir de culturas de fungos endofíticos de plantas medicinais chinesas era o principal componente antioxidante destes microrganismos.

Recentemente, verificou-se que várias estirpes endofíticas – por exemplo, *Vitis vinifera*, *Vitis quinquangularis* e *P. cuspidatum* – pertencentes aos géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botryosphaeria*, *Cephalosporium*, *Geotrichum*, *Mucor* e *Penicillium* produzem resveratrol, um composto produzido por muitas plantas em resposta a lesões

bióticas e abióticas, e um importante nutracêutico tendo em conta as suas propriedades antioxidantes. No entanto, apenas uma estirpe do género *Alternaria* mantinha esta capacidade após repetidos ciclos de cultura (Pangeni, Sahni, Ali, Sharma e Baboota, 2014; Shi, Zeng, Liu e Pan, 2012).

3.5.1) Pestacina e Isopestacina

A pestacina (FIGURA XIV) e a isopestacina (FIGURA XV) são dois compostos obtidos a partir do fungo *Pestalotopsis microspora* isolado a partir da planta *Terminalia morobensis* que cresce na costa norte de Papua na Nova Guiné (Harper et al., 2003; Strobel et al., 2002). Ambos os compostos apresentam atividade antioxidante e antimicrobiana.

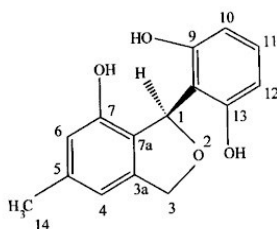


FIGURA XIV: Estrutura química da pestacina. Retirado de Strobel e Daisy, 2003.

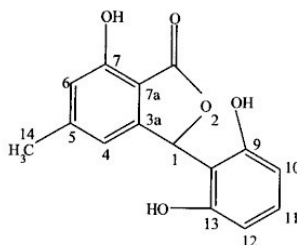


FIGURA XV: Estrutura química da isopestacina. Retirado de Strobel e Daisy, 2003.

Acredita-se que a pestacina tenha uma atividade antioxidante 11 vezes maior que o derivado da vitamina E, trolox, essencialmente através da clivagem de uma ligação C-H invulgarmente reativa e uma abstração O-H em menor grau (Harper et al., 2003). No caso da isopestacina, suspeitou-se da sua atividade antioxidante pela sua semelhança estrutural com os flavonóides e, quando submetido a espectroscopia de ressonância de spin, confirmou-se esta atividade antioxidante, pois o composto é capaz de eliminar radicais livres superóxido e hidroxilo em solução.

3.5.2) Grafislactona A

Este é um metabolito secundário de origem fenólica, isolado a partir do fungo endofítico *Cephalosporium* sp IFB-E001 habitante da planta *Trachelospermum jasminoides*, que demonstrou ter propriedades removedoras de radicais livres (FIGURA XVI) e atividade antioxidante *in vitro* mais forte do que os padrões, hidroxitolueno butilado (BHT) e ácido ascórbico, também estudados no mesmo ensaio (Song, Huang, Sun, Wang e Tan, 2005).

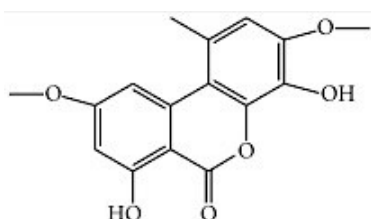


FIGURA XVI: Estrutura química do metabolito, de origem fenólica, grafislactona A. Retirado de Strobel e Daisy, 2003.

3.6 COMPOSTOS QUE FUNCIONAM COMO AGENTES ANTIDIABÉTICOS

O composto bioativo L-783,281, um metabolito não peptídeo contendo quino- nas, pode ser isolado a partir do fungo endofítico *Pseudomassaria* sp. encontrado na floresta tropical africana da República Democrática do Congo (perto de Kinshasa) (Strobel e Daisy, 2003; Zhang et al., 1999). Este composto atua mimetizando a atividade da insulina no organismo, no entanto, ao contrário desta, não é destruído ao nível do trato digestivo podendo ser administrado via oral. Desta forma, o L-783,281 torna-se um metabolito secundário promissor no desenvolvimento de novas terapias para a diabetes (Kharwar, Upadhyay, Dubey e Raghuwanshi, 2014; Saravanamuthu, 2010; Strobel e Daisy, 2003). Zhang e colaboradores (1999) utilizaram como modelo dois ratos com diabetes e administraram-lhes oralmente o metabolito L-783,281, verificando, assim, uma diminuição significativa dos níveis de glucose no sangue e abrindo portas para novas investigações no campo da diabetes.

3.7 COMPOSTOS IMUNOSSUPRESSORES

Os imunossupressores são compostos utilizados para evitar a rejeição de órgãos transplantados e, no futuro, poderão também vir a ser utilizados no tratamento de doenças auto-imunes, da artrite reumatoide e da diabetes dependente de insulina (tipo I).

Os compostos imunossupressores podem classificar-se em diferentes grupos consoante o seu mecanismo de ação: reguladores da expressão de genes (glucocorticoides), inibidores da sinalização de linfócitos (ciclosporina e tacrólimus), antimetabolitos (metotrexato), agentes alquilantes (metabolitos da ciclofosfamida) e anticorpos.

Dado os efeitos adversos dos atuais fármacos imunossupressores e a necessidade de alterar esse paradigma, nos últimos anos tem-se vindo a estudar os fungos endofíticos como recurso a novos compostos deste tipo. É o caso do fungo *Fusarium subglutinans*, isolado de *Tripterygium wilfordii*, uma planta utilizada na medicina tradicional chinesa, que produz subglutininol A e B, dois compostos imunossupressores não citotóxicos.

Os subglutinóis A e B, nos estudos realizados por Lee, Lobkovsky, Plam, Strobel e Clardy (1995), revelaram ser compostos altamente potentes no ensaio misto de linfócitos e no ensaio de proliferação de timócitos, com uma concentração inibitória de 50% de 0,1 μ M. Nas mesmas condições de ensaio, a ciclosporina, um fármaco imunossupressor muito utilizado hoje em dia, apresenta praticamente o mesmo grau de potência que os subglutinóis A e B no ensaio de reação mista de linfócitos e é 10^4 vezes mais potente no ensaio de proliferação de timócitos. O facto de os subglutinóis A e B não apresentarem toxicidade é de elevada importância, tendo essa característica vindo a ser explorada com mais detalhe (Lee et al., 1995 citado por Strobel e Daizy, 2003).

Na sequência dos estudos para procura de novos compostos a partir de fungos endofíticos, o Departamento de Microbiologia da Sandoz Ltd. desenvolveu um programa de avaliação e rastreio da bioatividade em fungos. Este programa permitiu não só uma avaliação rápida das amostras como também reconhecer e eliminar fungos comuns e estirpes que produziam compostos já profundamente explorados pela comunidade científica. Desta forma, foi possível despende mais tempo apenas e só com os fungos raros e desconhecidos com capacidade de produção de compostos novos e de interesse. Utilizando este método de pesquisa computacional foi possível descobrir o fungo *Tolyposcladium inflatum*, a partir do qual a ciclosporina foi isolada (Borel e Kis, 1991). Este é um exemplo que demonstra de forma clara o objetivo atual de muitos investigadores na procura de compostos a partir de fungos endofíticos em condições ambientais e hospedeiros com interesse de estudo (Strobel e Daisy, 2003).

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

Os microrganismos endofíticos são um grupo com muitas potencialidades a nível biológico e sobre o qual pouco se tem investigado, sendo, por isso, uma fonte inexplorada de recursos no sentido em que estes organismos têm a capacidade de produzir um mesmo composto ou similar inicialmente originário das suas plantas hospedeiras bem como outros compostos bioativos. Por este motivo, e pela necessidade de encontrar novos compostos, este tipo de microrganismos tem vindo a suscitar o interesse de vários investigadores em áreas como a medicina, a agricultura e a indústria (Strobel et al., 2004).

Nas últimas duas décadas a comunidade científica interessou-se sobretudo em compreender a diversidade fúngica existente, bem como estudar as relações entre fungos *versus* planta hospedeira, pesquisa de compostos bioativos naturais originários de fungos endofíticos, e melhorar a produtividade de alguns potenciais fungos de interesse.

Até aos dias de hoje, têm sido analisadas milhares de plantas com o intuito de perceber que tipo de microrganismos se encontram a viver no seu interior, provando-se que os fungos são bastante abundantes e a grande maioria deles tem interesse na síntese de valiosos compostos bioativos com atividade antimicrobiana, inseticida, citotóxica e anticancerígena, imunossupressora ou até antidiabética.

Os mecanismos através dos quais os microrganismos endofíticos existem e a forma como respondem ao seu meio ambiente devem ser melhor entendidos, a fim de se compreender melhor e poder determinar quais as melhores plantas a escolher para estudar e isolar componentes da microflora, podendo facilitar os processos de identificação do produto (Strobel e Daisy, 2003). Sabe-se, no entanto, que alguns microrganismos aparecem ativamente para penetrar os tecidos da planta por meio de aberturas ou por invasão de feridas, assim como de forma proativa utilizando enzimas hidrolíticas, tais como a celulase e a pectinase (Zhang et al., 2006).

Para além disso foi também comprovado que, durante o longo período de coevolução, os fungos endofíticos se adaptam aos seus microambientes de forma gradual por variação genética, incluindo a absorção de alguns segmentos de DNA vegetal nos seus próprios genomas, bem como a inserção de segmentos próprios de DNA no genoma do hospedeiro, o que pode levar a que certos destes microrganismos possuam a capacidade de biossintetizar alguns compostos originalmente associados às plantas hospedeiras (Stierle et al., 1993; Zhang et al., 2006).

Um dos principais problemas que enfrenta o futuro da investigação de compostos bioativos provenientes de microrganismos endofíticos, prende-se, essencialmente, com a rápida diminuição de florestas tropicais, que detêm por si só a maior fonte de recursos possível para a aquisição de novos microrganismos endofíticos e dos metabolitos por eles produzidos. Desta forma, os avanços a nível da biotecnologia, da engenharia genética, da tecnologia metabólica e processos de fermentação microbiana têm sido cruciais para melhorar a forma de obtenção de recursos e com o intuito de aumentar o benefício para a humanidade.

Ao fim de duas décadas de pesquisa, foram alcançados grandes progressos, embora ainda existam muitas questões, nomeadamente, no que diz respeito a aumentos de rendimento na obtenção do composto em culturas de fermentação, e uma melhor compreensão da via biossintética dos compostos nos fungos endofíticos, necessários para ser melhor esclarecida e resolvida.

Finalmente, seria muito importante, não só em termos de investigação, mas também a nível de organização do território, a realização de bases de dados com informação sobre a biodiversidade existente das diversas áreas do Mundo de forma a proteger informações que se encontram dispersas. Em áreas do planeta em que a biodiversidade apresenta características únicas, deveria ser dada primazia à sua preservação de forma a não esgotar fontes biológicas que mais tarde poderão vir a ser necessárias.

BIBLIOGRAFIA

- Alastruey-Izquierdo, A., Cuenca-Estrella, M., Monzón, A., Mellado, E. e Rodríguez-Tudela, J. L. (2008). Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium* spp. isolates identified by molecular methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(4), 805–809. doi: <http://doi.org/10.1093/jac/dkn022>
- Alvin, A., Miller, K. I. e Neilan, B. A. (2014). Exploring the potential of endophytes from medicinal plants as sources of antimycobacterial compounds. *Microbiological Research*, 169(7–8), 483–495. doi: <http://doi.org/10.1016/j.micres.2013.12.009>
- Aly, A. H., Debbab, A. e Proksch, P. (2011). Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(6), 1829–1845. doi: <http://doi.org/10.1007/s00253-011-3270-y>
- Amna, T., Puri, S. C., Verma, V., Sharma, J. P., Khajuria, R. K., Musarrat, J., ... Qazi, G. N. (2006). Bioreactor studies on the endophytic fungus *Entrophospora infrequens* for the production of an anticancer alkaloid camptothecin. *Canadian Journal of Microbiology*, 52(3), 189–196. doi: <http://doi.org/10.1139/w05-122>
- Antoniolli, Z. I. e Kaminski, J. (1991). Micorrizas. *Ciência Rural*, 21(3), 441–455.
- Arunpanichlert J, Rukachaisirikul V, Sukpondma Y, Phongpaichit S, Tewtrakul S, Rungjindamai S e Sakayarojd J. (2010). Azaphilone and isocoumarin derivatives from the endophytic fungus *Penicillium sclerotiorum* PSU–A13. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58, 1033–1036.
- Astuti, P., Sudarsono, S., Nisak, K. e Nugroho, G. W. (2014). Endophytic fungi isolated from *Coleus amboinicus* Lour exhibited antimicrobial activity. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(Suppl 2), 599–605. doi: <http://doi.org/10.5681/apb.2014.088>
- Bacon, C. W. e White, J. F. (2000). *Microbial Endophytes*. New York, NY: Marcel Dekker Inc.
- Barbie, D. A. e Frank, D. A. (2008). Pharmacology of Cancer: Genome Syntesis, Stability and Maintenace. In *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy* (2nd Edition, pp. 675–699). Lippincott Williams & Wilkins.
- Bhagobaty, R.K. e Joshi, S.R. (2011). Metabolite profiling of endophytic fungal isolates of five ethno-pharmacologically important plants of Meghalaya, India. *J. Metabo-*

- lomics Syst. Biol.*, 2, 20–31.
- Borel, J. F. e Kis, Z. L. (1991). The discovery and development of cyclosporine (Sandimmune). *Transplantation Proceedings*, 23(2), 1867–1874.
- Brady, S. F. e Clardy, J. (2000). CR377, a new pentaketide antifungal agent isolated from an endophytic fungus. *Journal of Natural Products*, 63(10), 1447–1448.
- Cao, L., Huang, J. e Li, J. (2007). Fermentation conditions of *Sinopodophyllum hexandrum* endophytic fungus on production of podophyllotoxin. *Food and Fermentation Industries*, 33, 28–32.
- Chakravarthi, B. V. S. K., Das, P., Surendranath, K., Karande, A. A. e Jayabaskaran, C. (2008). Production of paclitaxel by *Fusarium solani* isolated from *Taxus celebica*. *Journal of Biosciences*, 33(2), 259–267. doi: <http://doi.org/10.1007/s12038-008-0043-6>
- ChangLi, M. e XueJun, W. (2009). Isolation and identification of the 10-hydroxycamptothecin-producing endophytic fungi from *Camptotheca acuminata* Decne. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 29(3), 614–617.
- Chaudhary, H. S., Yadav, J., Shrivastava, A. R., Singh, S., Singh, A. K. e Gopalan, N. (2013). Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India). *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 4(2), 118–123. doi: <http://doi.org/10.4103/2231-4040.111528>
- Cheng, L., Ma, Q., Tao, G. e Tao, W. (2007). Systemic identification of a paclitaxel-producing endophytic fungus. *Industrial Microbiology*, 37, 23–30.
- Christina, A., Christopher, V. e Bhore, S. J. (2013). Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: An overview. *Pharmacognosy Reviews*, 7(13), 11–6. doi: <http://doi.org/10.4103/0973-7847.112833>
- Cole, Gary T. (1996). Basic Biology of Fungi. In Baron S. (Ed.), *Medical Microbiology*. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8099/#A3955
- Dai, W. e Tao, W. (2008). Preliminary study on fermentation conditions of taxol-producing endophytic fungus. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 27, 883–886.
- De Bary A. Morphologie and Physiologie der Pilze, Flechten and Myxomyceten, Holfmeister's Handbook of Physiological Botany. Germany : Leipzig; 1866. vol. 2.
- Demain, A. L. e Sanchez, S. (2009). Microbial drug discovery: 80 years of progress.

- The Journal of Antibiotics*, 62(1), 5–16. doi: <http://doi.org/10.1038/ja.2008.16>
- Deng, B. W., Liu, K. H., Chen, W. Q., Ding, X. W. e Xie, X. C. (2008). *Fusarium solani*, Tax-3, a new endophytic taxol-producing fungus from *Taxus chinensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(1), 139–143. <http://doi.org/10.1007/s11274-008-9876-2>
- Deshmukh, S. K., Mishra, P. D., Kulkarni-Almeida, A., Verekar, S., Sahoo, M. R., Periyasamy, G., ... Vishwakarma, R. (2009). Anti-inflammatory and anticancer activity of ergoflavin isolated from an endophytic fungus. *Chemistry & Biodiversity*, 6(5), 784–789. doi: <http://doi.org/10.1002/cbdv.200800103>
- Deshmukh, S. K., Verekar, S. A. e Bhawe, S. V. (2015). Endophytic fungi: A reservoir of antibacterials. *Frontiers in Microbiology*, 6(JAN), 1–43. doi: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00715>
- Ding, G., Li, Y., Fu, S., Liu, S., Wei, J. e Che, Y. (2009). Ambuic acid and torreyanic acid derivatives from the endolichenic fungus *Pestalotiopsis* sp. *Journal of Natural Products*, 72(1), 182–186. <http://doi.org/10.1021/np800733y>
- Dreyfuss, M. M., and Chapela, I. H. (1994). *Potential of fungi in the discovery of novel, low-molecular weight pharmaceuticals*. In V. P. Gullo (Ed). *The Discovery of Natural Products with Therapeutic Potential*. London: Butterworth- Heinemann (pg 49–80).
- Esposito-Polesi, N. P. (2011). Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas. *Revista Brasileira de Biociências*, 9(4), 533–541.
- Eyberger, A. L., Dondapati, R. e Porter, J. R. (2006). Endophyte fungal isolates from *Podophyllum peltatum* produce podophyllotoxin. *Journal of Natural Products*, 69(8), 1121–1124. doi: <http://doi.org/10.1021/np060174f>
- Ferreira, W. F. C. e Sousa, J. C. F. (2010). Conceitos Gerais de Microbiologia. In Ferreira, W. F. C., Sousa, J. C. F. de e Lima, N. (Coord.), *Microbiologia* (pp. 9–11). Lisboa - Porto: Lidel.
- Fill, T. P., Silva, B. F. e Rodrigues-Fo, E. (2010). Biosynthesis of phenylpropanoid amides by an endophytic *Penicillium brasilianum* found in root bark of *Melia azedarach*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(3), 622–629.
- Freeman, E. M. (1904). The seed-fungus of *Lolium temulum* L, the Darnel. *Philos. Trans. R. Soc. Lond, B-196*, 1–27. doi: <http://doi.org/10.1098/rstb.1904.0001>
- Freitas, Graciete (2010). Fungos. Ferreira, W. F. C., Sousa, J. C. F. de e Lima, N. (Coord.), *Microbiologia* (pp. 146–165). Lisboa - Porto: Lidel.

- Fujita, T., Makishima, D., Akiyama, K. e Hayashi, H. (2002). New convulsive compounds, brasiliamides A and B, from *Penicillium brasilianum* batista JV-379. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 66(8), 1697–1705. doi: <http://doi.org/10.1271/bbb.66.1697>
- Gangadevi, V., Murugan, M. e Muthumary, J. (2008). Taxol Determination from *Pestalotiopsis pauciseta*, a Fungal Endophyte of a Medicinal Plant. *Chinese Journal of Biotechnology*, 24(8), 1433–1438. doi: [http://doi.org/10.1016/S1872-2075\(08\)60065-5](http://doi.org/10.1016/S1872-2075(08)60065-5)
- Gangadevi, V. e Muthumary, J. (2009). Taxol production by *Pestalotiopsis terminaliae*, an endophytic fungus of *Terminalia arjuna* (arjun tree). *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 52(Pt 1), 9–15. doi: <http://doi.org/10.1042/BA20070243>
- García, J. L. G. (2014). Diferencia entre un conidioforo y un esporangio. Consultado a Setembro 25, 2016. Disponível em: <http://cienciasdejoseleg.blogspot.pt/2014/07/diferencia-entre-un-conidioforo-y-un.html>
- Garyali, S. e Reddy, M.S. (2013) Taxol production by an endophytic fungus, *Fusarium redolens*, isolated from Himalayan yew. *J. Microbiol. Biotechnol*, 23, 1372–1380.
- Gunatilaka, A. A. L. (2006). Natural Products from Plant-associated Microorganisms: Distribution, Structural Diversity, Bioactivity, and Implications of Their Occurrence. *Journal of Natural Products*, 69(3), 509–526. doi: <http://doi.org/10.1021/np058128n>
- Guo, B., Dai, J. R., Ng, S., Huang, Y., Leong, C., Ong, W. e Carte, B. K. (2000). Cytonic acids A and B: novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytospora* species. *Journal of Natural Products*, 63(5), 602–604.
- Guo, B., Li, H. e Zhang, L. (1998). Isolation of an fungus producing vinbrastine. *Journal of Yunnan University (Natural Sciences)*. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/CBA/313167>
- Guo, B., Wang, Y., Sun, X. e Tang, K. (2008). Bioactive natural products from endophytes: A review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(2), 136–142. doi: <http://doi.org/10.1007/s10438-008-2002-2>
- Guo, B., Wang, Y., Zhou, X., Hu, K., Tan, F., Miao, Z. e Tang, K. (2006). An endophytic taxol-producing fungus BT2 isolated from *Taxus chinensis* var. *mairei*. *African Journal of Biotechnology*, 5, 875–877.

- Guo, S., Jiang, B., Su, Y., Liu, S. e Zhang, L. (2004). Podophyllotoxin and its analogues from the endophytic fungi derived from *Diosma veitchii*. *Biotechnology*, 14, 55–57.
- Harper, J. K., Arif, A. M., Ford, E. J., Strobel, G. A., Porco, J. A., Tomer, D. P., ... Grant, D. M. (2003). Pestacin: A 1,3-dihydro isobenzofuran from *Pestalotiopsis microspora* possessing antioxidant and antimycotic activities. *Tetrahedron*, 59(14), 2471–2476. doi: [http://doi.org/10.1016/S0040-4020\(03\)00255-2](http://doi.org/10.1016/S0040-4020(03)00255-2)
- Harper, J. K., Barich, D. H., Hu, J. Z., Strobel, G. A. e Grant, D. M. (2003). Stereochemical Analysis by Solid-State NMR: Structural Predictions in Ambuic Acid. *The Journal of Organic Chemistry*, 68(12), 4609–4614. doi: <http://doi.org/10.1021/jo020377i>
- Horn, W. S., Simmonds, M. S. J., Schwartz, R. E. e Blaney, W. M. (1995). Phomopsichalasin, a Novel Antimicrobial Agent from an Endophytic *Phomopsis* sp. *Tetrahedron*, 51(14), 3969–3978.
- Hsiang, Y. H., Hertzberg, R., Hecht, S. e Liu, L. F. (1985). Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *The Journal of Biological Chemistry*, 260(27), 14873–14878.
- Hu, K., Tan, F., Tang, K., Zhu, S. e Wang, W. (2006). Isolation and screening of endophytic fungi synthesizing taxol from *Taxus chinensis* var. *mairei*. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 31, 134–137.
- Huang, W.-Y., Cai, Y.-Z., Xing, J., Corke, H. e Sun, M. (2007). A Potential Antioxidant Resource: Endophytic Fungi from Medicinal Plants. *Economic Botany*, 61(1), 14–30. doi: [http://doi.org/10.1663/0013-0001\(2007\)61\[14:APAREF\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1663/0013-0001(2007)61[14:APAREF]2.0.CO;2)
- Huang, Z., Cai, X., Shao, C., She, Z., Xia, X., Chen, Y., ... Lin, Y. (2008). Chemistry and weak antimicrobial activities of phomopsins produced by mangrove endophytic fungus *Phomopsis* sp. ZSU-H76. *Phytochemistry*, 69(7), 1604–1608. doi: <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.002>
- Hyde, K. D. e Soyong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, 33, 163–173.
- Jeewon, R., Liew, E. C. Y., Simpson, J. A., Hodgkiss, I. J. e Hyde, K. D. (2003). Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *Pestalotiopsis* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 27(3), 372–383.
- Kang, J. I. C., Hyde, K. D. e Kong, R. Y. C. (1999). Studies on Amphisphaeriales: The Amphisphaeriaceae (sensu stricto). *Mycological Research*, 103(1), 53–64.

- Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/article/studies-on-amphisphaeriales-amphisphaeriaceae-sensu-stricto/FC7CF5CBD53ACDAF6A4AEDFC946364BE>
- Kehrer, D. F., Soepenbergh, O., Loos, W. J., Verweij, J. e Sparreboom, A. (2001). *Modulation of camptothecin analogs in the treatment of cancer: a review. Anti-cancer drugs* (Vol. 12). doi: <http://doi.org/10.1097/00001813-200102000-00002>
- Khaled, M., Jiang, Z.-Z. e Zhang, L.-Y. (2013). Deoxypodophyllotoxin: a promising therapeutic agent from herbal medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(1), 24–34. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jep.2013.06.021>
- Kharwar, R. N., Upadhyay, R., Dubey, N. e Raghuwanshi, R. (2014). *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security*. Springer India. Disponível em: <https://books.google.pt/books?id=GfAkBAAQBAJ>
- Kong, P., Zhang, L., Guo, Y., Lu, Y. e Lin, D. (2014). Phillyrin, a natural lignan, attenuates tumor necrosis factor α -mediated insulin resistance and lipolytic acceleration in 3T3-L1 adipocytes. *Planta Med.* 80, 880–886.
- Koshino, H., Terada, S.-I., Yoshihara, T., Sakamura, S., Shimanuki, T., Sato, T. e Tajimi, A. (1988). Three phenolic acid derivatives from stromata of *Epichloe typhina* on *Phleum pratense*. *Phytochemistry*, 27(5), 1333–1338. doi: [http://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80188-2](http://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80188-2)
- Kour, A., Shawl, A. S., Rehman, S., Sultan, P., Qazi, P. H., Suden, P., ... Verma, V. (2008). Isolation and identification of an endophytic strain of *Fusarium oxysporum* producing podophyllotoxin from *Juniperus recurva*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(7), 1115–1121. doi: <http://doi.org/10.1007/s11274-007-9582-5>
- Kumaran, R.S., Choi, Y.K., Lee, S., Jeon, H.J., Jung, H. e Kim, H.J. (2014) Isolation of taxol, an anticancer drug produced by the endophytic fungus, *Phoma betae*. *Afr. J. Biotechnol.*, 11, 950–960.
- Kumaran, R. S., Muthumary, J. e Hur, B.-K. (2008a). Production of Taxol from *Phyllosticta spinarum*, an endophytic fungus of *Cupressus* sp. *Engineering in Life Sciences*, 8(4), 438–446. doi: <http://doi.org/10.1002/elsc.200800019>
- Kumaran, R. S., Muthumary, J. e Hur, B.-K. (2008b). Taxol from *Phyllosticta citricarpa*, a leaf spot fungus of the angiosperm *Citrus medica*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106(1), 103–106. doi: <http://doi.org/10.1263/jbb.106.103>

- Kumaran, R. S., Muthumary, J., Kim, E.-K. e Hur, B.-K. (2009). Production of taxol from *Phyllosticta dioscoreae*, a leaf spot fungus isolated from *Hibiscus rosa-sinensis*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 14(1), 76–83. doi: <http://doi.org/10.1007/s12257-008-0041-4>
- Kusari, S., Lamshoft, M. e Spiteller, M. (2009). *Aspergillus fumigatus* Fresenius, an endophytic fungus from *Juniperus communis* L. Horstmann as a novel source of the anticancer pro-drug deoxypodophyllotoxin. *Journal of Applied Microbiology*, 107(3), 1019–1030. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04285.x>
- Kusari, S., Lamshoft, M., Zühlke, S. e Spiteller, M. (2008). An endophytic fungus from *Hypericum perforatum* that produces hypericin. *Journal of Natural Products*, 71(2), 159–162. doi: <http://doi.org/10.1021/np070669k>
- Kusari, S., Zühlke, S. e Spiteller, M. (2009). An Endophytic Fungus from *Camptotheca acuminata* that Produces Camptothecin and Analogues. *Journal of Natural Products*, 72(1), 2–7. doi: <http://doi.org/10.1021/np800455b>
- Lee, J. C., Lobkovsky, E., Pliam, N. B., Strobel, G. e Clardy, J. (1995). Subglutinols A and B: Immunosuppressive compounds from the endophytic fungus *Fusarium subglutinans*. *The Journal of Organic Chemistry*, 60(22), 7076–7077. doi: <http://doi.org/10.1021/jo00127a001>
- Lee, J. C., Strobel, G. A., Lobkovsky, E. e Clardy, J. (1996). Torreyanic Acid: A Selectively Cytotoxic Quinone Dimer from the Endophytic Fungus *Pestalotiopsis microspora*. *The Journal of Organic Chemistry*, 61(10), 3232–3233. doi: <http://doi.org/10.1021/jo960471x>
- Lee, J. C., Yang, X., Schwartz, M., Strobel, G. e Clardy, J. (1995). The relationship between an endangered North American tree and an endophytic fungus. *Chemistry & Biology*, 2(11), 721–727. doi: [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/1074-5521\(95\)90100-0](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/1074-5521(95)90100-0)
- Li, C.-T., Li, Y., Wang, Q.-J. e Sung, C.-K. (2008). Taxol Production by *Fusarium arthrosporioides* isolated from yew, *Taxus Cuspidata*. *Journal of Medical Biochemistry*. doi: <http://doi.org/10.2478/v10011-008-0022-3>
- Li, C., Johnson, R. P. e Porco, J. A. J. (2003). Total synthesis of the quinone epoxide dimer (+)-torreyanic acid: application of a biomimetic oxidation/electrocyclization/Diels-Alder dimerization cascade. *Journal of the American Chemical Society*, 125(17), 5095–5106. doi: <http://doi.org/10.1021/ja021396c>

- Li, E., Jiang, L., Guo, L., Zhang, H. e Che, Y. (2008). Pestalachlorides A-C, antifungal metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis adusta*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(17), 7894–7899. doi: <http://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.075>
- Li, J.-Y., Sidhu, R. S., Bollon, A. R. T. e Strobel, G. A. (1998). Stimulation of taxol production in liquid cultures of *Pestalotiopsis microspora*. *Mycological Research*, 102(4), 461–464. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/article/stimulation-of-taxol-production-in-liquid-cultures-of-pestalotiopsis-microspora/70D25B0302D6BA3A78D1E58F3CB93E40>
- Li, J. Y., Harper, J. K., Grant, D. M., Tombe, B. O., Bashyal, B., Hess, W. M. e Strobel, G. A. (2001). Ambuic acid, a highly functionalized cyclohexenone with antifungal activity from *Pestalotiopsis* spp. and *Monochaetia* sp. *Phytochemistry*, 56(5), 463–468.
- Li, J. Y. e Strobel, G. A. (2001). Jesterone and hydroxy-jesterone antioomycete cyclohexenone epoxides from the endophytic fungus *Pestalotiopsis jesteri*. *Phytochemistry*, 57(2), 261–265.
- Li, J. Y., Strobel, G., Harper, J., Lobkovsky, E. e Clardy, J. (2000). Cryptocin, a potent tetramic acid antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Organic Letters*, 2(6), 767–770.
- Li, J. Y., Strobel, G., Sidhu, R., Hess, W. M. e Ford, E. J. (1996). Endophytic taxol-producing fungi from bald cypress, *Taxodium distichum*. *Microbiology (Reading, England)*, 142(Pt 8) 2223–2226. doi: <http://doi.org/10.1099/13500872-142-8-2223>
- Li, Q.-Y., Zu, Y.-G., Shi, R.-Z. e Yao, L.-P. (2006). Review camptothecin: current perspectives. *Current Medicinal Chemistry*, 13(17), 2021–2039.
- Li, Y. J., Sidhu, S. R., Ford, J. E., Long, M. D., Hess, M. W. e Strobel, A. G. (1998). The induction of taxol production in the endophytic fungus *Periconia* sp from *Torreya grandifolia*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20(5), 259–264. doi: <http://doi.org/10.1038/sj.jim.2900521>
- Li, Y., Yang, J., Zhou, X., Zhao, W. e Jian, Z. (2015) Isolation and identification of a 10-deacetyl baccatin-III-producing endophyte from *Taxus wallichiana*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 175, 2224–2231.
- Lima, S. C. (s.d.). Introdução Micologia. Consultado a Outubro 2, 2016. Disponível em: <http://biomed.xpg.uol.com.br/arquivos/Introducao%20fungos..pdf>
- Liu, K., Ding, X., Deng, B. e Chen, W. (2009). Isolation and characterization of

- endophytic taxol-producing fungi from *Taxus chinensis*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36(9), 1171–1177. doi: <http://doi.org/10.1007/s10295-009-0598-8>
- Liu, K., Ding, X., Deng, B. e Chen, W. (2010) 10-Hydroxycamptothecin produced by a new endophytic *Xylaria* sp., M20, from *Camptotheca acuminata*. *Biotechnol. Lett.*, 32, 689–693.
- Liu, X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Lv, X. e Yan, G. (2007). Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chemistry*, 105(2), 548–554. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.008>
- Lu, H., Zou, W. X., Meng, J. C., Hu, J. e Tan, R. X. (2000). New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science*, 151(1), 67–73. doi: [http://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00199-5](http://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00199-5)
- Lu, L., He, J., Yu, X., Li, G. e Zhang, X. (2006). Studies on isolation and identification of endophytic fungi strain SC13 from harmaceutical plant *Sabina vulgaris* Ant. and metabolites. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 15, 85–89.
- Lüllmann, H., Mohr, K., Ziegler, A. e Bieger, D. (2000). Anticancer Drugs. In *Color Atlas of Pharmacology* (2nd Edition, pp. 296–298). Stuttgart: Thieme Medical Pub.
- Melo, I. S., Santos, S. N., Rosa, L. H., Parma, M. M., Silva, L. J., Queiroz, S. C. N. e Pellizari, V. H. (2014). Isolation and biological activities of an endophytic *Mortierella alpina* strain from the Antarctic moss *Schistidium antarctici*. *Extremophiles*, 18(1), 15–23. doi:<http://doi.org/10.1007/s00792-013-0588-7>
- Miao, Z., Wang, Y., Yu, X., Guo, B. e Tang, K. (2009). A new endophytic taxane production fungus from *Taxus chinensis*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 45(1), 81–86. doi: <http://doi.org/10.1134/S0003683809010141>
- Michalczyk, A., Cieniecka-Rosłonkiewicz, A. e Cholewińska, M. (2014). Plant endophytic fungi as a source of paclitaxel. *Herba Pol.* 60, 22–33.
- Microbiology Society (s.d.). About Microbiology: Introducing microbes. Consultado a Maio 29, 2016. Disponível em: <http://www.microbiologyonline.org.uk/about-microbiology/introducing-microbes>
- Mirjalili MH, Farzaneh M, Bonfill M, Rezadoost H e Ghassempour A. (2012). Isolation and characterization of *Stemphylium sedicola* SBU-16 as a new endophytic taxol-producing fungus from *Taxus baccata* grown in Iran. *FEMS Microbiology Letters* 328, 122–129.

- Moore, A. e Pinkerton, R. (2009). Vincristine: Can its therapeutic index be enhanced? *Pediatric Blood & Cancer*, 53(7), 1180–1187. doi: <http://doi.org/10.1002/pbc.22161>
- Moore, D., Robson, G. D. e Trinci, A. P. J. (2011). *21st Century Guidebook to Fungi with CD*. Cambridge University Press. Disponível em: <https://books.google.pt/books?id=oEmKmLkFaWwC>
- MSD (s.d.). Biblioteca Médica para a Família: Secção 17 : Infecções. Consultado a Setembro 23, 2016. Disponível em: <http://www.manuaismsd.pt/?id=199&cn=1023>
- Mu, F., Yang, L., Wang, W., Luo, M., Fu, Y., Guo, X. e Zu, Y. (2012). negative-pressure cavitation extraction of four main vinca alkaloids from *Catharanthus roseus* leaves. *Molecules*, 17(8). doi: <http://doi.org/10.3390/molecules17088742>
- Murray, P., Rosenthal, K. S. e Pfaller, M. A. (2015). *Microbiologia Médica*. Elsevier Health Sciences Brazil. Disponível em: <https://books.google.pt/books?id=dDgcBgAAQBAJ>
- Musavi, S.F., Dhavale, A., Balakrishnan, R.M. (2015). Optimization and kinetic modeling of cell-associated camptothecin production from an endophytic *Fusarium oxysporum* NFX06. *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 45, 158–172.
- No, K. S., Strobel, G. e Ford, E. (1999). Screening of taxol-producing endophytic fungi from *Ginkgo biloba* and *Taxus cuspidata* in Korea. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 42, 97–99.
- Pandey, P. K., Singh, S., Yadav, R. N. S., Singh, A. K. e Chandra Kumar Singh, M. (2014). Fungal endophytes: Promising tools for pharmaceutical science. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 25(2), 128–138.
- Pangeni, R., Sahni, J.K., Ali, J., Sharma, S. e Baboota, S. (2014) Resveratrol: Review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv*, 11, 1285–1298.
- Pedroso, M. (2015). Fungos Fitopatogênico. Consultado a Setembro 25, 2016. Disponível em: <http://slideplayer.com.br/slide/3480455/>
- Perez, J., Pardo, J. e Gomez, C. (2002). Vincristine: an effective treatment of corticoid-resistant life-threatening infantile hemangiomas. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 41(2), 197–9. doi: <http://doi.org/10.1080/028418602753669607>
- Pimentel, M. R., Molina, G., Dionísio, A. P., Junior, M. R. M. e Pastore, G. M. (2011). The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in

- biotransformation process. *Biotechnology Research International*. 2011, 1–11. doi: <http://doi.org/10.4061/2011/576286>
- Pu, X., Qu, X., Chen, F., Bao, J., Zhang, G. e Luo, Y. (2013) Camptothecin-producing endophytic fungus *Trichoderma atroviride* LY357: Isolation, identification, and fermentation conditions optimization for camptothecin production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 9365–9375.
- Pulici, M., Sugawara, F., Koshino, H., Uzawa, J. e Yoshida, S. (1996). Metabolites of Endophytic Fungi of *Taxus brevifolia*: the First Highly Functionalized Humulane of Fungal Origin. *Journal of Chemical Research. Synopses*, (8), 378–379. Disponível em: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=10992312>
- Pulici, M., Sugawara, F., Koshino, H., Uzawa, J., Yoshida, S., Lobkovsky, E. e Clardy, J. (1996a). A New Isodrimeninol from *Pestalotiopsis* sp. *Journal of Natural Products*, 59(1), 47–48. doi: <http://doi.org/10.1021/np9600053>
- Pulici, M., Sugawara, F., Koshino, H., Uzawa, J., Yoshida, S., Lobkovsky, E. e Clardy, J. (1996b). Pestalotiopsins A and B: New Caryophyllenes from an Endophytic Fungus of *Taxus brevifolia*. *The Journal of Organic Chemistry*, 61(6), 2122–2124. doi: <http://doi.org/10.1021/jo951736v>
- Puri, S. C., Nazir, A., Chawla, R., Arora, R., Riyaz-Ul-Hasan, S., Amna, T., ... Qazi, G. N. (2006). The endophytic fungus *Trametes hirsuta* as a novel alternative source of podophyllotoxin and related aryl tetralin lignans. *Journal of Biotechnology*, 122(4), 494–510. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.10.015>
- Puri, S. C., Verma, V., Amna, T., Qazi, G. N. e Spiteller, M. (2005). An Endophytic Fungus from *Nothapodytes foetida* that Produces Camptothecin. *Journal of Natural Products*, 68(12), 1717–1719. doi: <http://doi.org/10.1021/np0502802>
- Qiu, D., Huang, M., Fang, X., Zhu, C. e Zhu, Z. (1994). Isolation of an endophytic fungus associated with *Taxus yunnanensis*. *Acta Mycologica Sinica*, 13(4), 314–316. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/CBA/266899>
- Raj, K.G., Manikandan, R., Arulvasu, C. e Pandi, M. (2015). Anti-proliferative effect of fungal taxol extracted from *Cladosporium oxysporum* against human pathogenic bacteria and human colon cancer cell line HCT 15. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 138, 667–674.
- Raj, K.G.; Rajapriya, P.; Muthumary, J.; Pandi, M. (2014) Molecular identification and characterization of the taxol-producing *Colletotrichum gloeosporioides* from *Moringa oleifera* Linn. In Kharwar, R.N., Upadhyay, R., Dubey, N. e

- Raghuwanshi, R. (Eds), *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security* (pp. 111-120). Springer India: New Delhi, India.
- Rehman, S., Shawl, A. S., Kour, A., Andrabi, R., Sudan, P., Sultan, P., ... Qazi, G. N. (2008). An endophytic *Neurospora* sp. from *Nothapodytes foetida* producing camptothecin. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(2), 203–209. doi: <http://doi.org/10.1134/S0003683808020130>
- Rodriguez, R. e Redman, R. (2008). More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 59(5), 1109–1114. doi: <http://doi.org/10.1093/jxb/erm342>
- Salim, A. A., Chin, Y.-W. e Kinghorn, A. D. (2008). Drug Discovery from Plants. In K. G. Ramawat & J. M. Merillon (Eds.), *Bioactive Molecules and Medicinal Plants* (pp. 1–24). inbook, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: http://doi.org/10.1007/978-3-540-74603-4_1
- Saravanamuthu, R. (2010). *Industrial Exploitation of Microorganisms*. BOOK, I.K. International Publishing House Pvt. Limited. Disponível em: <https://books.google.pt/books?id=eqaMzycRTmgC>
- Seifried, H. E., Anderson, D. E., Fisher, E. I. e Milner, J. A. (2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(9), 567–579. doi: <http://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.10.007>
- Selim, K., El-Beih, A., AbdEl-Rahman, T. e El-Diwany, A. (2012). Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*, 2(1), 31–82. doi: <http://doi.org/10.5943/cream/2/1/3>
- Senthilkumar, N., Murugesan, S., Mohan, V. e Muthumary, J. (2013). Taxol producing fungal endophyte, *Colletotrichum gleosporioides* (Penz.) from *Tectona grandis* L. *Curr. Biotica* 7, 8–15.
- Shi, J., Zeng, Q., Liu, Y. e Pan, Z. (2012) *Alternaria* sp. MG1, a resveratrol-producing fungus: Isolation, identification, and optimal cultivation conditions for resveratrol production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 95, 369–379.
- Shukla, S. T., Habbu, P. V., Kulkarni, V. H., Jagadish, K. S., Pandey, A. R. e Sutariya, V. N. (2014). Endophytic Microbes: A Novel Source for Biologically/ Pharmacologically Active Secondary Metabolites. *Asian Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2(3), 1–16.

- Shweta, S., Zuehlke, S., Ramesha, B. T., Priti, V., Mohana Kumar, P., Ravikanth, G., ... Uma Shaanker, R. (2010). Endophytic fungal strains of *Fusarium solani*, from *Apodytes dimidiata* E. Mey. ex Arn (Icacinaceae) produce camptothecin, 10-hydroxycamptothecin and 9-methoxycamptothecin. *Phytochemistry*, 71(1), 117–122. doi: <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.09.030>
- Singh, S. B., Ondeyka, J. G., Tsipouras, N., Ruby, C., Sardana, V., Schulman, M., ... Lingham, R. B. (2004). Hinnuliquinone, a C2-symmetric dimeric non-peptide fungal metabolite inhibitor of HIV-1 protease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 324(1), 108–113. doi: <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.08.234>
- Sirikantaramas, S., Asano, T., Sudo, H., Yamazaki, M. e Saito, K. (2007). Camptothecin: therapeutic potential and biotechnology. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 8(4), 196–202.
- Song, Y. C., Huang, W. Y., Sun, C., Wang, F. W. e Tan, R. X. (2005). Characterization of graphislactone A as the antioxidant and free radical-scavenging substance from the culture of *Cephalosporium* sp. IFB-E001, an endophytic fungus in *Trachelospermum jasminoides*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28(3), 506–509.
- Specian, V., Orlandelli, R. C., Felber, A. C., Azevedo, J. L. e Pamphile, J. A. (2014). Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi of Pharmaceutical Interest. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*, 16(345), 345–351.
- Stierle, A., Strobel, G. e Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, 260(5105), 214–216.
- Stinson, M., Ezra, D., Hess, W. M., Sears, J. e Strobel, G. (2003). An endophytic *Gliocladium* sp. of *Eucryphia cordifolia* producing selective volatile antimicrobial compounds. *Plant Science*, 165(4), 913–922. doi: [http://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00299-1](http://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00299-1)
- Strobel, G. A. (2002). Rainforest Endophytes and Bioactive Products. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22(4), 315–333. <http://doi.org/10.1080/07388550290789531>
- Strobel, G. A., Dirkse, E., Sears, J. e Markworth, C. (2001). Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 147(Pt 11), 2943–2950. doi: <http://doi.org/10.1099/00221287-147-11-2943>
- Strobel, G. A., Hess, W. M., Ford, E., Sidhu, R. S. e Yang, X. (1996). Taxol from fungal endophytes and the issue of biodiversity. *Journal of Industrial*

- Microbiology*, 17(5), 417–423. doi: <http://doi.org/10.1007/BF01574772>
- Strobel, G. A., Hess, W. M., Li, J.-Y., Ford, E., Sears, J., Sidhu, R. S. e Summerell, B. (1998). *Pestalotiopsis guepinii*, a Taxol-producing Endophyte of the *Wollemi Pine*, *Wollemia nobilis*. *Australian Journal of Botany*, 45(6), 1073–1082. doi: <http://dx.doi.org/10.1071/BT96094>
- Strobel, G. A., Miller, R. V, Martinez-Miller, C., Condron, M. M., Teplow, D. B. e Hess, W. M. (1999). Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Microbiology*, 145 (Pt 8, 1919–1926). doi: <http://doi.org/10.1099/13500872-145-8-1919>
- Strobel, G. e Daisy, B. (2003). Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(4), 491–502. doi: <http://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491>
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U. e Harper, J. (2004). Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products*, 67(2), 257–68. doi: <http://doi.org/10.1021/np030397v>
- Strobel, G., Ford, E., Worapong, J., Harper, J. K., Arif, A. M., Grant, D. M., ... Chau, R. M. W. (2002). Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiopsis microspora*, possessing antifungal and antioxidant activities. *Phytochemistry*, 60(2), 179–183.
- Sudha, V., Govindaraj, R., Baskar, K. e Al-dhabi, N. A. (2016). Biological properties of Endophytic Fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59(December), 1–7. doi: <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2016150436>
- Sun, D., Ran, X. e Wang, J. (2008). Isolation and identification of a taxol-producing endophytic fungus from Podocarpus. *Acta Microbiologica Sinica*, 48(5), 589–595.
- Tian, R., Yang, Q., Zhou, G., Tan, J., Zhang, L. e Fang, C. (2006). Taxonomic study on a taxol producing fungus isolated from bark of *Taxus chinensis* var. *mairei*. *Wuhan botanical research*. ABST, College of Life Sciences, Wuhan University. Wuhan 430072, Hubei; China. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/CBA/630948>
- Tortora, G. J., Case, C. L. e Funke, B. R. (2016). *Microbiologia - 12ª Edição*. Disponível em: https://books.google.pt/books?id=L98_DQAAQBAJ
- Tsuchiya, S., Yamabe, M., Yamaguchi, Y., Kobayashi, Y., Konno, T. e Tada, K. (1980). Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1). *International Journal of Cancer*, 26(2), 171–176.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M. e Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84. doi: <http://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Venkatachalam, R., Subban, K. e Paul, M. T. (2008). Taxol from *Botryodiplodia theobromae* (BT 115) an endophytic fungus of *Taxus baccata*. *Journal of Biotechnology*. 2008. *Journal of Biotechnology*, 136, S198–S190.
- Venugopalan, A. e Srivastava, S. (2015) Enhanced camptothecin production by ethanol addition in the suspension culture of the endophyte, *Fusarium solani*. *Bioresour. Technol.*, 188, 251–257.
- Wagenaar, M., Corwin, J., Strobel, G. e Clardy, J. (2000). Three new chytochalasins produced by an endophytic fungus in the genus *Rhinochadiella*. *Journal of Natural Products*, 63, 1692–1695.
- Wall, M. E., Wani, M. C., Cook, C. E., Palmer, K. H., McPhail, A. T. e Sim, G. A. (1966). Plant Antitumor Agents. I. The Isolation and Structure of Camptothecin, a Novel Alkaloidal Leukemia and Tumor Inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *Journal of the American Chemical Society*, 88(16), 3888–3890. doi: <http://doi.org/10.1021/ja00968a057>
- Walters, W. P. e Namchuk, M. (2003). Designing screens: how to make your hits a hit. *Nat Rev Drug Discov*, 2(4), 259–266. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd1063>
- Wang, B., Li, A. e Wang, X. (2001). An endophytic fungus for producing taxol. *Science in China (Series C)*, 31, 271–274.
- Wang, J., Lu, H., Huang, Y., Zheng, Z. e Su, W. (1999). A taxol-producing endophytic fungus isolated from *Taxus mairei* and its antitumor activity. *Journal of Xiamen University (Natural Science Edition)*, 38, 419–422.
- Wang, Q., Yuan, F., Pan, Q., Li, M., Wang, G., Zhao, J. e Tang, K. (2010). Isolation and functional analysis of the *Catharanthus roseus* deacetylcholine-4-O-acetyltransferase gene promoter. *Plant Cell Reports*, 29(2), 185–192. doi: <http://doi.org/10.1007/s00299-009-0811-2>
- Wang, Y., Ma, Z., Hu, F., Fan, M. e Li, Z. (2014). Isolation and screening of endophytic fungi producing taxol from *Taxus chinensis* of Huangshan. *Nat. Prod. Res. Dev.*, 26, 1624–1627.
- Wani, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coggon, P. e McPhail, A. T. (1971). Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and

- antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society*, 93(9), 2325–2327.
- Weber, D., Sterner, O., Anke, T., Gorzalczancy, S., Martino, V. e Acevedo, C. (2004). Phomol, a new antiinflammatory metabolite from an endophyte of the medicinal plant *Erythrina crista-galli*. *The Journal of Antibiotics*, 57(9), 559–563.
- Worapong, J., Strobel, G. A., Daisy, B., Castillo, U., Baird, G. e Hess, W. M. (2002). *Muscodor roseus* ann. nov. an endophyte from *Grevillea pteridifolia*. *Mycotaxon*, 81, 463–475.
- Worapong, J., Strobel, G., Ford, E. J., Li, J. Y., Baird, G. e Hess, W. M. (2001). *Muscodor albus* anam. gen. et sp. nov., an endophyte from *Cinnamomum zeylanicum*. *Mycotaxon*, 79, 67–79.
- Yang, X., Guo, S., Zhang, L. e Shao, H. (2003). Selection of producing podophyllotoxin endophytic fungi from podophyllin plant. *Natural Product Research and Development*, 15, 419–422.
- Yang, X., Zhang, L., Guo, B. e Guo, S. (2004). Preliminary study of a vincristine-producing endophytic fungus isolated from leaves of *Catharanthus roseus*. *Chinese traditional and herbal drugs*. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/CBA/464342>
- Yang, Y., Zhao, H., Barrero, R.A., Zhang, B., Sun, G., Wilson, I.W., ... Bruce, R. (2014). Genome sequencing and analysis of the paclitaxel-producing endophytic fungus *Penicillium aurantiogriseum* NRRL 62431. *BMC Genomics*, 15, 69.
- Zaiyou, J.; Li, M.; Guifang, X.; Xiuren, Z. (2013) Isolation of an endophytic fungus producing baccatin III from *Taxus wallichiana* var. *mairei*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 40, 1297–1302.
- Zeng, S., Shao, H. e Zhang, L. (2004). An endophytic fungus producing a substance analogous to podophyllotoxin isolates from *Diphylleia sinensis*. *Journal of Microbiology*, 24, 1–2.
- Zhang, B., Salituro, G., Szalkowski, D., Li, Z., Zhang, Y., Royo, I., ... Moller, D. E. (1999). Discovery of a small molecule insulin mimetic with antidiabetic activity in mice. *Science (New York, N.Y.)*, 284(5416), 974–977.
- Zhang, H. W., Song, Y. C. e Tan, R. X. (2006). Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23(5), 753–771. doi: <http://doi.org/10.1039/b609472b>
- Zhang, L., Chen, F., Wang, J., Chen, Y., Zhang, Z., Lin, Y. e Zhu, X. (2015). Novel isatin derivatives of podophyllotoxin: synthesis and cytotoxic evaluation against

- human leukaemia cancer cells as potent anti-MDR agents. *RSC Advances*, 5(118), 97816–97823. doi: <http://doi.org/10.1039/C5RA21217K>
- Zhang, L., Guo, B., Li, H., Zeng, S., Shao, H., Gu, S. e Wei, R. (2000). Preliminary study on the isolation of endophytic fungus of *Catharanthus roseus* and its fermentation to produce products of therapeutic value. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. ABST, Department of Biology, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China; Yunnan Institute of Microbiology. Disponível em: <http://europepmc.org/abstract/CBA/344765>
- Zhang, G., Sun, S., Zhu, T., Lin, Z., Gu, J., Li, D. e Gu, Q. (2011). Antiviral isoindolone derivatives from an endophytic fungus *Emericella* sp. associated with *Aegiceras corniculatum*. *Phytochemistry*, 72(11–12), 1436–1442. doi: <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.014>
- Zhang, P., Zhou, P.-P. e Yu, L.-J. (2009). An endophytic taxol-producing fungus from *Taxus media*, *Cladosporium cladosporioides* MD2. *Current Microbiology*, 59(3), 227–232. doi: <http://doi.org/10.1007/s00284-008-9270-1>
- Zhao, J., Zhou, L., Wang, J. e Shan, T. (2010). Endophytic fungi for producing bioactive compounds originally from their host plants. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 567–576. doi: <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.07.021>
- Zhao, K., Ping, W., Li, Q., Hao, S., Zhao, L., Gao, T. e Zhou, D. (2009). *Aspergillus niger* var. *taxi*, a new species variant of taxol-producing fungus isolated from *Taxus cuspidata* in China. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4), 1202–1207. doi: <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04305.x>
- Zhao, K., Zhao, L., Jin, Y., Wei, H., Ping, W. e Zhou, D. (2008). Isolation of a taxol-producing endophytic fungus and inhibiting effect of the fungus metabolites on HeLa cell. *Mycosystema*, 27, 735–744.
- Zhou, L. G. e Wu, J. Y. (2006). Development and application of medicinal plant tissue cultures for production of drugs and herbal medicinals in China. *Natural Product Reports*, 23(5), 789–810. doi: <http://doi.org/10.1039/B610767B>
- Zou, W. X., Meng, J. C., Lu, H., Chen, G. X., Shi, G. X., Zhang, T. Y. e Tan, R. X. (2000). Metabolites of *Colletotrichum gloeosporioides*, an endophytic fungus in *Artemisia mongolica*. *Journal of Natural Products*, 63(11), 1529–1530.

ANEXOS

TABELA I:

Tabela síntese que correlaciona os metabolitos secundários produzidos pelos respectivos fungos endofíticos e plantas donde são extraídos. Os metabolitos secundários produzidos pelos fungos endofíticos podem ter diferentes ações terapêuticas, nomeadamente, anticancerígenas, antimicrobianas, antivirais, antifúngicas, antioxidantes e até mesmo antidiabéticas e imunossupressoras.

TABELA I: Tabela síntese que correlaciona os metabolitos secundários produzidos pelos respectivos fungos endofíticos e plantas donde são extraídos. Os metabolitos secundários produzidos pelos fungos endofíticos podem ter diferentes ações terapêuticas, nomeadamente, anticancerígenas, antimicrobianas, antivirais, antifúngicas, antioxidantes e até mesmo antidiabéticas e imunossupressoras. Adaptado de Pandey et al. (2014) e Zhao et al. (2010)

Compostos Bioativos	Fungos Endofíticos	Planta Hospedeira	Nome Comum da Planta	Referência
Paclitaxel e análogos	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Taxus cuspidata</i> .	Teixo do Japão	Strobel, Hess, Ford, Sidhu e Yang, 1996
		<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Ginkgo biloba</i>	No, Strobel e Ford, 1999
		<i>Corylus avellana</i>	Avelaneira	Michalczyk, Cieniecka-Roslonkiewicz, Cholewinska, 2014
	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	---	Tian et al., 2006
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Podocarpus</i> sp	Podocarpo	Sun, Ran e Wang, 2008
	<i>Aspergillus niger</i> var. <i>taxi</i>	<i>Taxus cuspidata</i>	Teixo do Japão	Zhao et al., 2009
	<i>Botryodiplodia theobromae</i>	<i>Taxus baccata</i>	Teixo Europeu	Venkatachalam, Subban e Paul, 2008
	<i>Botrytis</i> sp.	<i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	---	Hu, Tan, Tang, Zhu e Wang, 2006
		<i>Taxus cuspidata</i>	Teixo do Japão	Zhao et al., 2008
	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Taxus media</i>	---	Zhang, Zhou e Yu, 2009
	<i>Cladosporium oxysporum</i>	<i>Moringa oleifera</i>	Lírio-Branco, Baqueta	Raj, Manikandan, Arulvasu e Pandi, 2015
	<i>Cladosporium gleosporinoides</i>	<i>Tectona grandis</i>	Teca	Senthilkumar, Murugesan, Mohan e Muthumary, 2013
		<i>Moringa oleifera</i>	Lírio-Branco, Baqueta	Raj, Rajapriya, Muthumary e Pandi, 2014
	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	<i>Taxus wallichiana</i>	Teixo dos Himalaia	Zaiyou, Li, Guifang e Xiuren, 2013
	<i>Ectostroma</i> sp.	<i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	----	Hu et al., 2006
	<i>Fusarium arthrosporioides</i>	<i>Taxus cuspidata</i>	Teixo Europeu	Li, Li, Wang e Sung, 2008

	<i>Fusarium lateritium</i>	<i>Taxus baccata</i>	Teixo Europeu	Strobel et al., 1996
	<i>Fusarium mairei</i>	<i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	---	Cheng, Ma, Tao e Tao, 2007; Dai e Tao, 2008
	<i>Fusarium solani</i>	<i>Taxus celebica</i>	---	Chakravarthi, Das, Surendranath, Karande e Jayabaskaran, 2008
		<i>Taxus chinensis</i>	---	Deng, Liu, Chen, Ding e Xie, 2008
	<i>Fusarium redolens</i>	<i>Taxus wallachiana</i>	Teixo dos Himalaias	Garyali e Reddy, 2013
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Taxus chinensis</i>	---	K. Liu, Ding, Deng e Chen, 2009
	<i>Monochaetia</i> sp.	<i>Taxus baccata</i>	Teixo Europeu	Strobel et al., 1996
	<i>Mucor rouxianus</i>	<i>Taxus chinensis</i>	---	Miao, Wang, Yu, Guo e Tang, 2009
	<i>Ozonium</i> sp.	<i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	---	Guo et al., 2006
	<i>Papulaspora</i> sp.	<i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	---	Hu et al., 2006
	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	<i>Corylus avellana</i>	Avelaneira	Yang et al., 2014
	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Taxus chinensis</i>	---	Wang, Ma, Hu, Fan e Li, 2014
	<i>Periconia</i> sp.	<i>Torreya grandifolia</i>	---	Li et al., 1998
	<i>Pestalotia bicilia</i>	<i>Taxus baccata</i>	Teixo Europeu	Strobel et al., 1996
	<i>Pestalotiopsis guepinii</i>	<i>Wollemia nobilis</i>	Pinheiro de Wollemi	Strobel et al., 1998
	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Taxus cuspidata</i>	Teixo do Japão	Strobel et al., 1996
		<i>Taxus wallachiana</i>	Teixo dos Himalaias	Strobel et al., 1996
		<i>Taxodium distichum</i>	Cipreste dos pântanos	Li, Strobel, Sidhu, Hess e Ford, 1996
		<i>Taxus wallachiana</i>	Teixo dos Himalaias	Li, Sidhu, Bollon e Strobel, 1998
	<i>Pestalotiopsis pauciseta</i>	<i>Cardiospermum helicacabum</i>	Bagos de chumbo	Gangadevi, Murugan e Muthumary, 2008
	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>Wollemia nobilis</i>	Pinheiro de Wollemia	Strobel et al., 1998
	<i>Pestalotiopsis terminaliae</i>	<i>Terminalia arjuna</i>	Arjuna	Gangadevi e Muthumary, 2009
	<i>Phyllosticta citricarpa</i>	<i>Citrus medica</i>	Cidra; Cidreira	Kumaran, Muthumary e Hur,

				2008b
	<i>Phyllosticta dioscoreae</i>	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	Hibisco; Rosa da china	Kumaran, Muthumary, Kim e Hur, 2009
	<i>Phyllosticta spinarum</i>	<i>Cupressus</i> sp.	Cipreste	Kumaran, Muthumary e Hur, 2008a
	<i>Phoma betae</i>	<i>G.biloba</i>	Gingko biloba	Kumaran et al., 2014
	<i>Pithomyces</i> sp.	<i>Taxus sumatrana</i>	Teixo da Sumatra	Strobel et al., 1996
	<i>Taxomyces andreanae</i>	<i>Taxus brevifolia</i>	Teixo do Pacífico	Stierle et al., 1993
	<i>Taxomyces</i> sp.	<i>Taxus yunnanensis</i>	---	Wang, Li e Wang, 2001
	<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Taxus wallichiana</i>	Teixo dos Himalaia	Li, Yang, Zhou, Zhao e Jian, 2015
	<i>Tubercularia</i> sp.	<i>Taxus chinensis</i> var. <i>mairei</i>	---	Wang, Lu, Huang, Zheng e Su, 1999
	---	<i>Taxus yunnanensis</i>	---	Qiu, Huang, Fang, Zhu e Zhu, 1994
Ácido Torreiano	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Taxus taxifolia</i>	---	Lee et al., 1996
Ergoflavina	Familia dos Ascomicetes (PM0651480)	<i>Mimosops elengi</i>	---	Deshmukh et al., 2009
Podofilotoxina e análogos	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Sinopodophyllum hexandrum</i> (= <i>Podophyllum hexandrum</i>)	Maçã de Maio Himalaia	Yang et al., 2003
		<i>Sanina vulgaris</i>	---	Lu et al., 2006
	<i>Alternaria neesex</i>	<i>Sinopodophyllum hexandrum</i>	Maçã de Maio Himalaia	Cao et al., 2007
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Sabina recurva</i> (= <i>Juniperus recurva</i>)	---	Kour et al., 2008
	<i>Monilia</i> sp.	<i>Dysosma veitchii</i>	---	Yang et al., 2003
	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Sinopodophyllum hexandrum</i>	Maçã de Maio Himalaia	Yang et al., 2003
		<i>Diphylleia sinensis</i>	---	Yang et al., 2003
		<i>Dysosma veitchii</i>	---	Yang et al., 2003
	<i>Penicillium implicatum</i>	<i>Diphylleia sinensis</i>	---	Zeng, Shao e Zhang, 2004
	<i>Penicillium implication</i>	<i>Dysosma veitchii</i>	---	S. Guo, Jiang, Su, Liu e Zhang, 2004

	<i>Phialocaphala fortinii</i>	<i>Sinopodophyllum peltatum</i>	Limão-bravo	Eyberger et al., 2006
	<i>Trametes hirsuta</i>	<i>Sinopodophyllum hexandrum</i>	Maça de Maio Himalaia	Puri et al., 2006
Cafeína	---	<i>Coffea</i> spp.	Cafeeiro	Bhagobaty e Joshi, 2011
Camptotecina e análogos	<i>Entrophospora infrequens</i>	<i>Nothapodytes foetida</i>		Amna et al., 2006; Puri et al., 2005
	<i>Fusarium solani</i>	<i>Camptotheca acuminata</i>	---	Kusari, Zühlke e Spiteller, 2009
		<i>Apodytes dimidiata</i>	---	Shweta et al., 2010
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Nothapodytes foetida</i>	---	Musavi, Dhavale e Balakrishman, 2015
	<i>Neurospora</i> sp.	<i>Nothapodytes foetida</i>	---	Rehman et al., 2008
	<i>Xylaria</i> sp.	<i>Camptotheca acuminata</i>	---	Liu et al., 2010
	---	<i>Camptotheca acuminata</i>	---	ChangLi e XueJun, 2009
Vimblastina e análogos	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Catharantus roseus</i>	Vinca; Vinca de Madagáscar	Guo et al., 1998
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Catharantus roseus</i>	Vinca; Vinca de Madagáscar	Zhang et al., 2000
	---	<i>Catharantus roseus</i>	Vinca; Vinca de Madagáscar	Yang et al., 2004
Outros metabolitos Anticancerígenos	<i>Penicillium brasilianum</i>	<i>Melia azedarach</i>	Cinamomo; Amargoseira	Fill, Silva e Rodrigues-Fo, 2010
	<i>Rhinocladiella</i> sp.	<i>Trypterigeum wilfordii</i>	Videira Trovão de Deus	Wagenaar, Corwin, Strobel e Clardy, 2000
Fomopsicalasina	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Trypterigeum wilfordii</i>	Videira Trovão de Deus	Horn et al., 1995
Ácido Coletótrico	<i>Colleotrichum gloeosporioides</i>	<i>Artemisia mongolia</i>	Artemisia	Zou et al., 2000
Compostos Orgânicos Voláteis	<i>Muscodor albus</i>	<i>Cinnamonum zeylanicum</i>	Caneleira	Strobel et al., 2001
	<i>Muscodor roseus</i>	<i>Grevillea pteridifolia</i>	---	Worapong et al., 2002
	<i>Gliocladium</i> sp.	<i>Eucryphia cordifolia</i>	Ulmo	Stinson et al., 2003
Outros metabolitos Antimicrobianos	<i>Colleotrichum</i> sp.	<i>Artemisia annua</i>	Artemisia	Lu et al., 2000
	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Erythrina crista</i>	Corticeira	Weber et al., 2004
		<i>Mangrove</i>	Árvores dos mangues	Huang et al., 2008
	<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Hypericum perforatum</i>	Erva de S. João; Hipercão	Souvik Kusari, Lamshoft, Zuhlke e Spiteller, 2008

Ácidos Citónicos A e B	<i>Cytonaema</i> sp	---	---	Guo et al., 2000
Hinnuliquinona	---	<i>Quercus coccinera</i>	Carvalho-vermelho-americano	Singh et al., 2004
Pestaloteol C	<i>Pestalotiopsis theae</i>	--- (China)	---	Li et al., 2008
Criptocina	<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	<i>Trypterigeum wilfordii</i>	Videira Trovão de Deus	Li et al., 2000
Criptocandina	<i>Cryptosporiopsis quercina</i>	<i>Trypterigeum wilfordii</i>	Videira Trovão de Deus	Strobel et al., 1999
Ácido Ambuico	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	---	---	Harper, et al., 2003
Pestaloído	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Torreya taxifolia</i>	---	Lee, Yang, et al., 1995
Pestalopirona				
Hidroxipestalopirona				
Pestalotiopsina A e B	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Taxus brevifolia</i>	Teixo do Pacífico	Pulici et al., 1996b
2- α -hidroxidimeninol	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Taxus brevifolia</i>	Teixo do Pacífico	Pulici et al., 1996a
Jesterona	<i>Pestalotiopsis jesteri</i>	<i>Terminalia morobensis</i>	---	Li e Strobel, 2001
Hidroxi-jesterona				
Outros metabolitos Antifúngicos	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Salaginella pallescens</i>	Selaginela	Brady e Clardy, 2000
Extrato de metanol	<i>Xylaria</i> sp.	<i>Ginkgo biloba</i>	<i>Ginkgo biloba</i>	Liu et al., 2007
Pestacina	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	<i>Terminalia morobensis</i>	---	Harper et al., 2003
Isopestacina				
Grafislactona A	<i>Cephalosporium</i> sp	<i>Trachelospermum jasminoides</i>	Jasminóide; Jasminea	Song et al., 2005
	<i>Cephalosporium</i> sp.	<i>Trachelospermum jasminoides</i>	Jasminóide; Jasminea	Song et al., 2005
Filirina	---	<i>Phyllirea</i> sp.	Aderno	Kong et al., 2014
		<i>Forsythia suspensa</i>	---	
Resveratrol	<i>Alternaria</i> sp.	---	---	Pangeni et. al, 2012
Outros metabolitos antioxidantes	<i>Penicillium brasilianum</i>	<i>Melia azedarach</i>	Cinamomo; Amargoseira	Kusari et al., 2009
L-783,281	<i>Pseudomassaria</i> sp.	--- (Rep. Dem. Congo)	---	Zhang et al., 1999
Subglutinóis A e B	<i>Fusarium subglutinans</i>	<i>Trypterigeum wilfordii</i>	Videira Trovão de Deus	Lee et al., 1995
Ciclosporina	<i>Tolypocladium inflatum</i>	---	---	Borel e Kis, 1991

